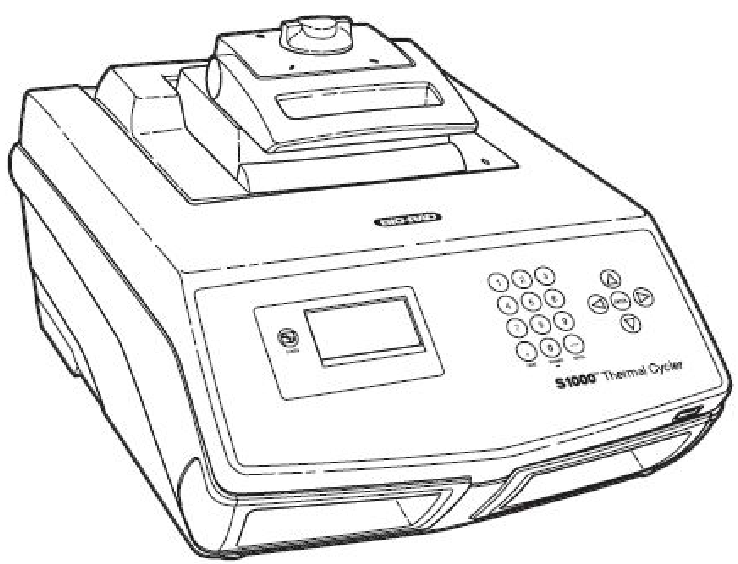
Ｓ１０００サーマルサイクラー
取扱説明書



Bio-Rad Laboratories, Inc., 2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA 94547 · 800-424-6723

10010424

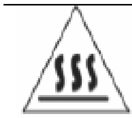
本品を購入されたお客様にライセンス情報のお知らせ

安全性および規則に関する順守事項

S1000 サーマルサイクラーは、その操作によって迅速に加熱冷却することができる機器です。
本機器を安全に操作するため、本章および本書中に記載する安全性基準を順守してください。

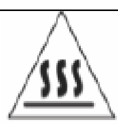
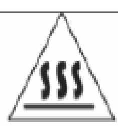
安全性に関する警告表示
機器本体および本書に表示される警告表示とは、使用者に障害などの発生源を知らせるためのイラストです。表 1 に、完全性に関する警告マークを説明します。

表 1. 安全性に関する警告表示の意味

	**注意：危険のおそれ！** このマークは、正しく取り扱わなかった場合に、使用者に傷害が生じるおそれのある機器部分を示します。このマークが表示される場合は、必ず本書を読んで内容をよく確認したうえで操作を進めてください。
	**注意：表面が加熱されている！** このマークは、正しく取り扱わなかった場合、加熱した機器によって使用者に傷害が生じるおそれがある機器部分を示します。

機器安全性に関する警告
表 2 に示す警告マークはサーマルサイクラー本体の画面にも表示されるものであり、CFX96 光学リアクションモジュールを安全に使用する場合に役立てます。

表 2. 機器の安全性に関する警告マーク

アイコン	説明
	**人体や機器本体に傷害を与えるおそれがあることの警告** 本書の解説を読まずに S1000 サーマルサイクラーを操作すると、使用者が傷害を受けるおそれがあります。安全に使用するため、本書に記載されていない方法によって機器を操作しないでください。電気機器を安全に使用するための研修を受け、正式な承認を得ている研究スタッフが本機器を使用してください。本機器の各部品については、手指を洗浄し水気を十分に拭き取ったうえで、清潔かつ丁寧に取り扱ってください。
	**火傷リスクの警告** サーマルサイクラーを操作すると、重度の火傷を生じるほどに加熱されます。操作時は、かならず保護用ゴーグルやそれに準じる眼部保護用具を装用してください。サンプルブロックの温度が十分に下がっていることを確認したうえで、リッドを開け、サンプルを取りだしてください。火傷を避けるため、非操作時には本機器から十分離れてください。
	**爆発リスクの警告** サンプルブロックは、その正常な操作によってサンプル液を沸騰・爆発する程度まで加熱させることが可能となります。

安全使用に関する規格および順守事項

表 3 に、S1000 サーマルサイクラーの安全使用に関する規格を示します。クラス A FCC 規制に準拠するため、同梱のシールドケーブルを必ず使用してください。

表 3. 安全使用に関する規格

安全使用に関する要件		規格
温度	室内使用	周辺温度：15～31°C、相対湿度：最高 80°C（結露なし）
標高		海抜 2000 m 以下

規制事項の順守

本機器は、以下に記載する安全性および電磁場に関する基準の該当要件に適合していることが試験により確認されています。

- IEC 61010-1：2001（第 2 版）、EN61010-1：2001（第 2 版）。測定、制御及び研究室用電気機器、第 1 部：一般的要求事項。
- IEC 61010-2-010：2005、EN61010-2-010：2003。 測定、制御及び研究室用電気機器に関する要件、第 2 部-010：材料加熱用実験機器に関する特別要求事項。
- IEC 61010-2-081：2001+A1、EN61010-2-081：2002+A1。測定、制御及び研究室用電気機器に関する安全性要件、第 2 部-081：分析用および他目的用の自動および半自動実験機器に関する特別要求事項（改訂 1 を含む）。
- EN 61326-1：2006 （クラス A）測定、制御及び研究室用電気機器。EMC 要求事項、第 1 部：一般的要求事項

本機器は、高周波エネルギーを発生し、それを使用し、放射することを可能とする機器であるため、本取扱説明書の記載事項に準拠して設置し使用されない場合には、無線通信において有害な干渉を生じるおそれがあります。一般住宅地域で本機器を稼働させた場合には、有害な干渉を生じる可能性が高く、その場合には、使用者が自費によってその干渉を補正しなければなりません。

もくじ

はじめに

このたびは、弊社の S1000 サーマルサイクラーをご購入いただき、誠にありがとうございます。本機器は、バイオ･ラッド ラボラトリーズ社 PCR 製品群の最新機種となります。

この章では、S1000 サーマルサイクラーの関連製品ならびに拡張機能を紹介します。

- 1000 シリーズサーマルサイクラーのラインナップ
- バイオラッドラボラトリーズ株式会社のサポート

1000 シリーズサーマルサイクラーのラインナップ

1000 シリーズサーマルサイクラーは、使いやすく信頼できるラインナップで最高パフォーマンスを提供します。ブロック交換が容易で、目的に応じて 3 種類のサーマルブロックを用意しております。

カタログ番号	製品名
184-0048	1000 シリーズ用リアクションモジュール 2x48wellx0.2ml
184-0096	1000 シリーズ用リアクションモジュール 96wellx0.2ml
184-0384	1000 シリーズ用リアクションモジュール 384well

バイオ･ラッドラボラトリーズの情報サービス

弊社では、科学研究者を対象とした情報サービスを実施しております。以下に示すウェブサイトでは、PCR のほか、リアルタイム PCR 実験の実行に関する有益な情報を提供しております。

- Gene Expression Gateway（www.bio-rad.com/genomics/）
  このウェブサイトでは、PCR、リアルタイム PCR、遺伝子発現に関連する各種の実験方法や応用パターンについて、豊富な技術的情報を入手することができます。
- Life Science Research web site（discover. bio-rad.com）
  このウェブサイトでは、技術的な情報、取扱説明書、製品情報、技術サポートなどの情報にアクセスしていただけます。

表 4 に、弊社が提供する情報サービスと同情報の入手方法を示します。

表 4. バイオ･ラッド社の技術サービス

サービス	連絡方法
各地域での弊社営業拠点	弊社ウェブサイト（www.bio-rad.com）から自国言語ページを選択し、地域の情報を確認します。本書の裏表紙に当社営業拠点を記載しています。
技術情報および文献	弊社ウェブサイト（www.bio-rad.com）または Gene Expression Gateway （www.bio-rad.com/genomics/）のページを開きます。検索ボックスに検索用語を入力し、技術情報、取扱説明書、その他の文献情報のリンク先を表示します。
技術専門スタッフ	弊社では、高品質の技術サポート体制を整えています。また、技術サポート部門に経験豊富なスタッフを配置しており、お客様のお問い合わせに対応して実践的で専門的な解決方法を提供いたします。 電話にてお問い合わせの場合は、最寄りの弊社営業拠点までご連絡ください。日本での技術サポートをご希望の場合には、03-6404-0331 まで連絡してください。

本書での専用表記

本書は、S1000 サーマルサイクラーおよび付属品を使用する研究者や技術者を対象にした取扱説明書となります。本システムを安全にセットアップし操作する方法を解説しています。以下の表 5 に示す本書での専用表記により、重要な情報を速やかに得ることが可能となります。

表 5. 取扱説明書に使用される専用表記

表記	**説明**
アドバイス:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで有益となる情報や取扱い方法などが記載されます。
重要ポイント:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで重要となる情報が記載されます。
警告!	使用者への傷害、機器への傷害、データ消失の原因などに関連した事項であり、重大な情報が記載されます。
X 項目＞Y 項目	ツールバー、メニューまたはソフトウェアウィンドウから X 項目を選択し、次に Y 項目を選択することを示します。

本書で使用される安全使用の表示マークについては、iii ページの「安全性および規則に関する順守事項」を参照してください。

操作の開始

S1000 サーマルサイクラーは簡単にセットアップし、プロトコールを実行することができます。リアクションモジュールをサーマルサイクラー本体にセットすれば、プロトコールを開始することが可能となります。

本章では、本装置のセットアップおよび操作方法について説明します。より詳しい説明は以下に示す頁を参照してください。

- S1000 サーマルサイクラーのセットアップ
- S1000 サーマルサイクラー本体およびリアクションモジュールの概要
- リアクションモジュールの選択とセット
- リアクションモジュールのヒートリッドの操作
- コントロールパネルの操作
- ファイルツリーからのファイルおよびフォルダの選択

S1000 サーマルサイクラーのセットアップ

本項では、S1000 サーマルサイクラーを安全に開封し、セットアップするための手順について説明します。本装置の操作準備を行うため、以下の手順を進めてください。

1. S1000 サーマルサイクラー本体およびリアクションモジュールの包装開封

S1000 サーマルサイクラー本体パッケージには、サーマルサイクラー本体、電源コード、クイックガイドおよび本取扱説明書が含まれています。開封後、設置場所にサーマルサイクラー本体を設置します。

サーマルサイクラーを正確に操作するためは、十分な冷却用の気流が必要となります。十分な気流が得られていることを確認するために、装置を操作する前に 101 ページを確認してください。

2. リアクションモジュールのセット

サーマルサイクラーベイ内部にリアクションモジュールをセットし、ロック固定します。リアクションモジュールの詳しいセット方法は、15 ページを参照してください。

3. 電源コードの接続とサーマルサイクラーの電源 ON

電源コードを用いてサーマルサイクラー本体と外部コンセントを接続します。本体背面の電源スイッチを ON にします。

サーマルサイクラーの操作を始める前に、「安全性および規則に関する要求事項」に記載された警告事項等を必ずお読みください。

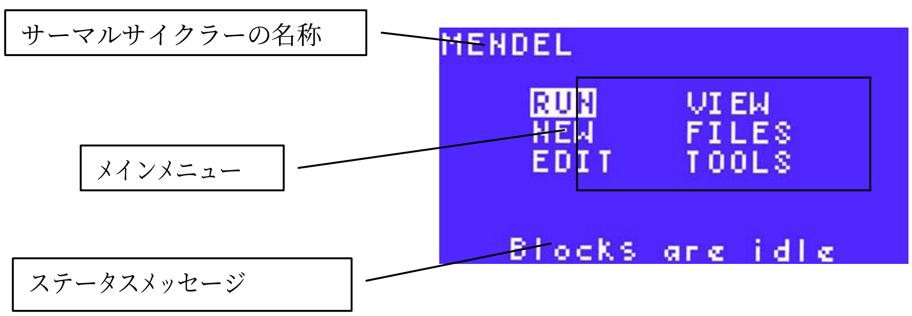
本装置の起動によって自動的にセルフテストが実行されます。システム機能が正常であることが確認された後、メインメニューが表示されます。

このメインメニューから、サーマルサイクラー操作を開始します。メニューから全操作へのアクセスが可能です。また、サーマルサイクラーの状態が画面に表示されます。

サーマルサイクラーに名称を入力すると、メインメニュー上段にその名称が表示されます。サーマルサイクラーの名称の入力方法は、89 ページを参照してください。

たとえば、メインメニューは以下の図のように表示され、この場合、状況メッセージは「Blocks are idle（ブロックは待機中です）」と表示され、サーマルサイクラーの名称は"MENDEL"となります。

メインメニューに表示されるオプション情報は、69 ページを参照してください。



サーマルサイクラー本体および関連付属品は、バイオ･ラッド社の標準的な保証対象となります。詳しい保証規定については、バイオ･ラッドラボラトリーズ㈱までお問い合わせください。当社への連絡先は裏表紙をご覧ください。

S1000 サーマルサイクラーについて

S1000 サーマルサイクラーは、本体およびリアクションモジュールから構成されます。以下の項では、サーマルサイクラーおよびリアクションモジュールのおもな部品について説明します。

- 本体前面-リアクションモジュールをセットした状態
- 本体上部-リアクションモジュール をセットした状態
- 本体背面-リアクションモジュールをセットした状態

本体前面-リアクションモジュールをセットした状態（本体前面）

サーマルサイクラー本体の前面には、コントロールパネルとリアクションモジュールがあります。下図には、コントロールパネル、LCD 画面、空気孔など、サーマルサイクラー本体のおもな機能部位を示します。



本体上部-リアクションモジュールをセットした状態

サーマルサイクラー本体のベイ部分にはリアクションモジュールが組み込まれています。下図には、リアクションモジュールとサーマルサイクラー本体のおもな機能部位を示します。リアクションモジュールの詳細は、8 ページを参照してください。



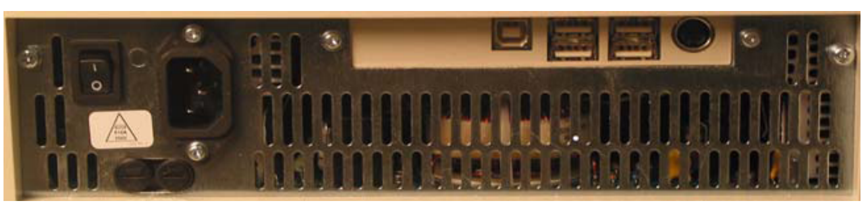
本体背面-リアクションモジュールをセットした状態

リアクションモジュールをセットした本体後面は、おもに電源スイッチ、データポートおよびリアクションモジュールから構成されます。



背面パネルには、サーマルサイクラーにデータを送受信するデータポートがあります。

- USB B ポートは、 S1000 と C1000 サーマルサイクラーの接続用のポートです。
- USB A ポートは、C1000 サーマルサイクラーまたは USB ハブに接続した別の SI000 サーマルサイクラーとさらに接続するためのポートです。(96 ページ).
- テスト用ポート (点検時のみ使用します) 。



交換可能なリアクションモジュール

S1000 シリーズは豊富なバリエーションのリアクションモジュールを使用することができます。

表 7　1000 シリーズ　リアクションモジュールのサイズと上限

リアクションモジュール	ブロック数	推奨サンプル容量 (最大容量)
2x48well	2	10-50ul　(50　ul)
96well	1	10-50ul　(50　ul)
384well	1	3-30ul　(30　ul)

リアクションモジュールのヒートリッドは高さを調節することが可能で、各種の PCR 反応用チューブに対応しており、67　ページに掲載するマイクロプレート、チューブ、キャップを使用することが可能です。

リアクションモジュールはすべて、以下に示した機能を装備しています。

- ヒートリッド：各プロトコールで設定した温度にヒートリッドを加熱することができます。また同時に反応チューブのフタを押さえつける役割を果たします。
- ヒートリッド高さ調整用ダイヤル：反応チューブを適切な圧力で押さえつけるためにヒートリッドの高さを調節することができます。
- LED：どのブロックが選択されており、使用中であるかの状態が点灯表示します。
- ロック用レバー：本体にリアクションモジュールを固定します。
- サンプルサーマルブロック：サンプルチューブを固定し、温度コントロールを行います。



リアクションモジュールの取付けと取り外し

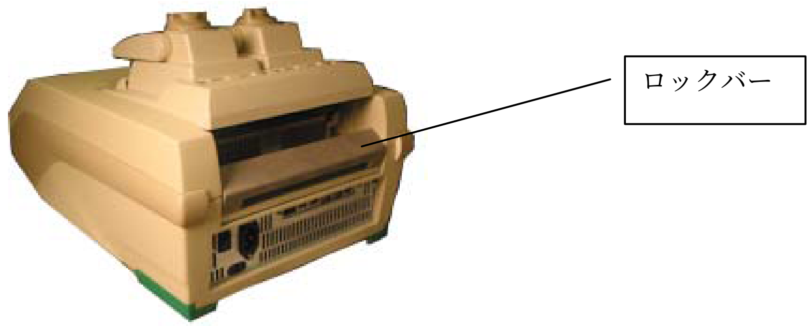
リアクションモジュールは、簡単に取付け･取り外しが可能です。取付け後は本体に固定され、安全に操作できます。本項では、リアクションモジュールの取付け･取り外し方法について説明します。

リアクションモジュールの取付け

以下の手順で、本体にリアクションモジュールをセットします。

1. ベイ内でのリアクションモジュールの位置合わせ

ロックバーをロック解除位置まで下げます。次に、リアクションモジュールベイ内にモジュールを持ち上げ、2cm の前部スペースに設置します。



2. リアクションモジュールの固定ロック

モジュールを前方に押してロックバーを引き上げ、ロック固定します。



アドバイス：リアクションモジュールはできうる限り本体に設置した状態で保管してください。

リアクションモジュールの取り外し

以下の手順で、本体からリアクションモジュール を取り外します。

1.リアクションモジュールのロック解除

ロックバーを下げ、モジュールのロックを解除します。



2. ベイから のリアクションモジュール持ち上げ

リアクションモジュールの前後を持って持ち上げた状態で、ベイから外します。



3. 清潔で水平な場所でのリアクションモジュール保管

本体にリアクションモジュールを保管しない場合は、安全な位置に保管します。

警告！リアクションモジュール底部の換気ファンを損傷すると、モジュールが適正に加温･冷却されなくなるおそれがあります。

ヒートリッドの開閉

ヒートリッド内部にあるシーリングプレートを調整することで、チューブに対し荷重および加熱を行うことができます。適切な調整を行うことで以下の理由により連続的に安定した PCR の結果が得られます。

- キャップまたはシーリングテープを荷重することで密着性を高め、サンプルの蒸発を防ぎます。
- キャップまたはシーリングテープを加熱することでチューブ内でのサンプルの凝縮を防ぎます。

以下では、ヒートリッドの開閉方法を説明します。

- ヒートリッドの開き方
- ヒートリッドの閉じ方および調整方法

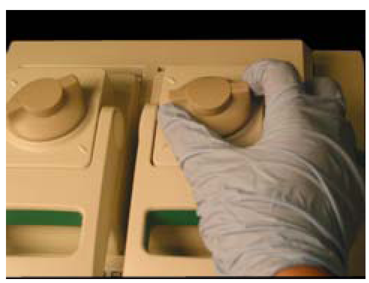
警告！プロトコール実行が完了した直後では、ヒートリッドが熱くなっています。ヒートリッドの開閉には十分に注意を払ってください。加熱されたヒートリッドやブロックは、冷めるまで触れないでください。

ヒートリッドの開き方

以下の手順で、ヒートリッドを開きます。

1. ヒートリッド荷重用ノブの開放

反時計回りにヒートリッド荷重用ノブを回して、ヒートリッドをゆるめます。



2. レバーの持ち上げ

ヒートリッドロックは、その上部にあるリップ部位となります。ヒートリッドをゆるめるため、レバーを持ち上げて押し戻してください。



3. 完全に開く

リアクションモジュールの後方にヒートリッドレバーを持ち上げ、開いた状態で開放します。

ヒートリッドの閉じ方と荷重程度の調節

以下の手順でヒートリッドを閉じます。

1. ヒートリッドを閉じる

リアクションモジュールに反応チューブまたはプレートを挿入します。レバーを下方に押し戻してヒートリッドを閉じて、ロック固定します。



2. ヒートリッド荷重程度の調節

ヒートリッド荷重用ノブを時計回り（右回り）に回転させて荷重の程度を強めます。反時計回り（左回り）に回転させると、荷重の程度が弱くなります。



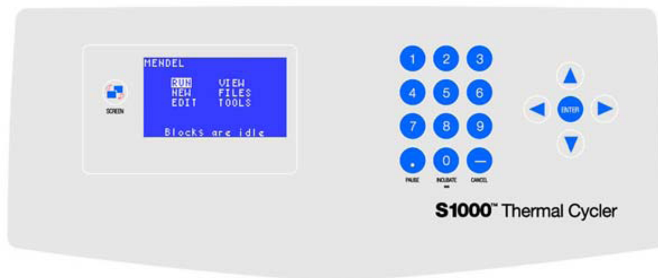
アドバイス：まず、プレートまたはチューブがヒートリッドと接触するまで、ヒートリッド荷重用ノブを時計回りに回転してください（ややきつく感じるところまで）。次に、テープシールを用いている場合はさらに 1/2 回転してください。ストリップキャップまたは個別チューブを使用している場合はさらに 1/4 回転してください。

インナープレートがチューブに接触した後、荷重用ノブは 1/2 回転のみ追加回転させてください。それ以上過剰に締めつける必要はありません。

コントロールパネルおよびメインメニュー

本体正面にあるコントロールパネルより、S1000 の解析に関するほぼ全ての機能へアクセスすることができます。同パネルには以下の部位から構成されます。

- 液晶ディスプレイ (LCD) :メインメニューと他のメニュー画面を表示します。
- キーパッドおよびナビゲーションキー:このキーによりコマンドを入力します (21 ページ) 。



コントロールパネルキー

表 8 コントロールパネルのキー機能

Keys	Function	Additional notes
SCREEN	Toggles between screens for alternate views	Press this key to view the status of a run
NUMERIC AND SYMBOL KEYS		
1 through 9	Enter numbers	Press each key to select numbers
PAUSE (.)	Enter a decimal point or pause a protocol	
INCUBATE (0, ∞)	Enter a zero, begin an instant incubation or enter an infinite hold	
CANCEL (-)	Enter a minus sign or cancel a function	Press this key to delete an entry, cancel a function, stop a protocol, end an incubation, or delete text on the screen
NAVIGATION KEYS		
RIGHT ARROW	Move cursor to the right	
LEFT ARROW	Move cursor to the left	
UP ARROW	Move cursor up	Press the up arrow key to scroll from A to Z on the screen. For example, press the up key three times to select the letter C
DOWN ARROW	Move cursor down	Press the down arrow key to scroll from Z to A on the screen. For example, press the down arrow key eight times to select the letter S
ENTER	Confirm a selection, a command, an entry, or to open a folder	

メインメニュー

メインメニューより主要機能にアクセスし、本システムを操作することができます。



メインメニューが表示されていない場合のメインメニューの表示方法

- プロトコールを実行していない場合： CANCEL キーを数回押します。
- プロトコールを実行している場合： SCREEN キーを数回押します。

メインメニューのオプション項目を選択することによって、以下に示す各機能を適用することができます。

- RUN ： 既存プロトコールファイルの実行
- NEW ： 新規プロトコールファイルの作製
- EDIT ： 既存プロトコールファイルの編集
- FILES ： 既存プロトコールのファイルのコピー、移動、名称変更、削除
- VIEW ： 既存プロトコールのチェック
- TOOLS ： サーマルサイクラー設定の変更

ファイルツリー

プロトコールファイルはいずれも、ファイルツリーに保存されます。プロトコールの実行、変更または確認のためにプロトコールを選択しなければならない場合には、このツリーを経由します。たとえば、メインメニュー内の RUN を選択すると、ファイルツリーが開き、希望するファイルを選択することができます。

ファイルツリーには、以下のフォルダが含まれます。

- MAIN フォルダ：あらかじめインストールされたプロトコールが保存されています。削除または名称変更はできません。ユーザ作成ファイルも本フォルダに保存することは可能ですが推奨いたしません。MAIN フォルダに保存されているプロトコールファイルは保護されません。

- ユーザフォルダ：本システムのユーザが作成したプロトコールファイルを保管します。同ファイル内のユーザフォルダとファイルはすべてパスワードで保護することができます。

次に示す画像は、ファイルツリーの例です。この例では、MAIN フォルダが選択されており、MAIN フォルダ内にあるプロトコールファイルが画面右側に表示されています。この MAIN フォルダのプロトコールリストには、あらかじめインストールされたプロトコールファイルとユーザ作成ファイルが含まれます。ここで選択されているプロトコールのファイル名は、「ITAQFST」となります。この画面例では、EVA および GRANT という名称のフォルダが、ユーザの作成したユーザフォルダとなります。

フォルダ名は、以下のとおり、鍵括弧（<フォルダ名>）付きで表示されます。



フォルダにプロトコールが 6 つ以上含まれている場合、いくつかのプロトコールは画面に表示されません。画面を下方にスクロールして隠れているプロトコールを表示してください。スクロールさせるためには、下矢印キーを押します。

MAIN フォルダには、あらかじめインストールされたプロトコールが入っています。メインメニューのこのインストール済みファイルは、ユーザが使用し、コピーすることが可能です。なお、メインメニューがファイルで一杯になると、希望するプロトコールを探しにくくなります。アクセスしやすくするため、新たに作成したプロトコールは別のフォルダに移すことを推奨します（73 ページ）。

プロトコールの作成および変更

プロトコールファイルの作成･変更はメインメニューから簡単に行うことができます。
本章では、以下に示す NEW、EDIT および FILES コマンドの各機能の使い方をご説明します。

本章概要

- 新しいプロトコールファイルの作成について
- プロトコールの各種オプション設定について
- ブロックの温度制御モードについて
- ヒートリッドの設定について
- プロトコールファイルの変更･編集について

新しいプロトコールファイル作成 (NEW コマンド)

メインメニューから NEW を選択し、新しいプロトコールファイルを作成します。プロトコールファイルには、ステップサイクルを作成するためのプロトコールステップと操作説明が含まれています。

1 つのプロトコールファイル には、最大で 99 のプロトコールステップを含めることが可能です。ただし、ステップの最初はTEMP またはGRAD (グラジエント) を設定する必要があり、最終ステップには END を設定する必要があります。

プロトコールを入力する前に、PCR に必要な条件 (温度や時間など) をあらかじめ決定しておきます。本機で設定可能な数値は (60 ページ) に記載があります。PCR プロトコールの最適化については、60 ページをご参照ください。

別の機器から本システムに PCR プロトコールデータを移す場合は、65 ページの方法をご参照ください。
この章では、本システムで新たに PCR プロトコールを作成する方法をステップごとに説明します。
ここでは、メインメニューおよびコントロールパネルの使い方 (20 ページ) を理解していることが前提条件となります。

1.　NEW 選択による新規プロトコールファイルの作成

矢印キーを押し、メインメニューの NEW を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



参考：S1000 サーマルサイクラーの内部メモリーには、最大で 400 通りの 2 ステップ・プロトコールを保存できます。

新規プロコール入力の最初の画面



2.　新しいプロトコールファイルへの名称付け

アルファベットと数字からなるプロトコール名を入力します。数字はテンキーから入力し、アルファベットについては、上下矢印キーを用いて希望の文字を選択します。文字を選択し後 ENTER を押し、次スペースにカーソルを移動します。本機では、プロトコールファイル 名は 1～8 文字の間で入力できます。文字は、数字か大文字で入力します。同一フォルダには同一名称のプロトコールは保存できません。

最初の文字を入力します。

たとえば、「C」の文字を選択するには、UP キーを 3 回押します。「S」ならば、DOWN キーを 8 回押します。下図では、「S」が入力されています。



参考：アルファベット文字の詳しい入力方法は、「コントロールパネルキー」（20 ページ）を参照してください。

下図では、「STD3」の文字が入力されており、次スペースのカーソルが強調表示されています。



入力した文字を変更するには、変更したい文字にカーソルを合わせ再入力します。文字を消去するには、文字列の最後にカーソルをあわせて CANCEL を押します。(文字列の途中にある文字は消去できません。) プロトコール名称の入力が終わったら、ENTER を押して次の画面に進みます。



3. ヒートリッド温度の入力 (オプション)

テンキーを押して、ヒートリッドの温度を入力します。

ENTER を押してヒートリッド温度を確定し、次の画面に進みます。ヒートリッド温度の設定範囲は、0～110°Cです。新規プロトコールでの初期設定値は、105°Cとなります。

下図では、ヒートリッド温度が 110°Cに変更されています。



ブロックが「Turn off below」(後述) で設定されている温度以下の条件でホールドされている場合、ヒートリッドは 31.0°Cに維持されます。Turn off below の設定値を変更するには、メインメニューから TOOLS > DEFAULTS を選択します (90 ページ)。

4. サンプル容量の入力 (μL 単位)

テンキーにより、使用するサンプル容量を入力します。ENTER を押し、次の画面に進みます。新規プロトコールの初期設定値は、10μL となります。サンプル容量は、使用するプロトコールごとに変更することができます。

サンプル容量を1～50μLの間で入力した場合は、温度制御モードにカリキュレートモード（標準モード）が選択されます。一方、サンプル容量に 0（ゼロ）と入力した場合は、温度制御モードにブロックモードが選択されます。

温度制御モードの詳しい説明については、39 ページを参照してください。実際のサンプル温度がほぼ正確に反映されるため、カリキュレートモードを使用することを推奨します。

5.　プロトコールファイルへの TEMP ステップ入力

矢印キーを用いて、温度設定の種類を選択します。ここでは全ウェルの温度を一定にする TEMP を選択します。GRAD を選択した場合の温度 GRAD ステップの入力方法については、23 ページのステップ 6 をご参照ください。ENTER を押し、次の画面に進みます。

TEMP を選択すると下図の画面が表示されます。



プロトコールの最初のステップは、必ず TEMP ステップまたは GRAD ステップとなります。設定温度を 0.0～100.0℃の範囲で入力します。テンキーを押し、TEMP ステップの設定温度を入れます。

設定温度を 95℃にする場合は、下図の状態で ENTER を押して次の項目に進みます。



温度を設定した後、その温度を維持する時間を 0:01（1 秒）～18:00:00 （18 時間）の範囲で入力します。0 を入力すると無限大（FOREVER）の維持時間として温度がホールドされます。

テンキーを押して、温度保持時間（TIME）を分秒の単位で入力します。たとえば、4 分（4:00）と入力する場合は 400、30 秒と入力する場合は 30 と入力します。ENTER を押し、次の項目に進みます。

下図では、温度保持時間が 4 分となります。



時間を入力した後、入力したパラメータを確認します。下図のように画面下に、YES、NO、Option の 3 項目が表示されます。左右矢印キーでいずれかを選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

・ YES を選択すると、このプロトコールステップの最新パラメータが確定されます。
・ No を選択すると、このプロトコールステップのパラメータを変更することができます。
・ Option を選択すると、このプロトコールステップにパラメータを追加することができます。

入力オプションに関する詳しい解説は、「INC, EXT, RATE および BEEP パラメータの追加」（34 ページ ）をご参照ください。

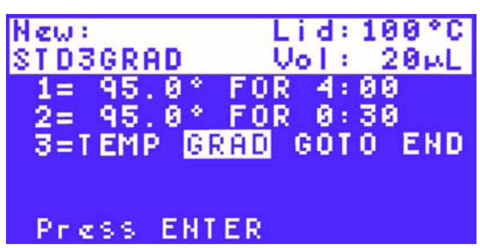
下図では、YES が選択されています。



6. GRAD ステップ入力 （オプション）

プロトコール作成画面で温度設定の種類を選ぶ画面で右矢印を押して GRAD を選択します。続いて GRAD ステップを入力してください。ENTER を押し、次の画面に進みます。

下図では、Step 3 で GRAD が選択されています。



初めにグラジエントでの最低温度を入力します。この最低温度は、ブロックの前列（H 列）での温度となります。

下図では、この最低温度が 50°Cに入力されています。



次にグラジエントでの最高温度を入力します。この最高温度は、ブロックの後列（A 列）での温度となります。

なお、グラジエントの温度幅は最大で 24°Cとなります。したがって Lower を 50°Cに設定した場合、Upper は 74°C以下でしか設定することができません。

GRAD ステップの設定において「最低（Lower）」温度は 30°Cであり、「最高（Upper）」温度は 100°Cとなります。したがって、最低グラジエントの温度幅は 30～54°C、最高グラジエントの温度幅は 76～100°Cとなります。

温度設定の後、0:01（1 秒）～18:00:00（18 時間）の範囲で温度保持時間を入力します。

参考：グラジエント計算ツール（91 ページの TOOLS > GRADCALC 参照）を選択し、グラジエントでのブロックの各列での温度をチェックすることができます。

時間を入力した後、入力したパラメータを確認します。下図のように画面下に、YES、NO、Option の 3 項目が表示されます。左右矢印キーでいずれかを選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

- YES を選択すると、このプロトコールステップの最新パラメータが確定されます。
- No を選択すると、このプロトコールステップのパラメータを変更することができます。
- Option を選択すると、温度グラジエンのプレビュー（後述）や、温度保持時間延長のオプション（36 ページで説明）を追加することができます。

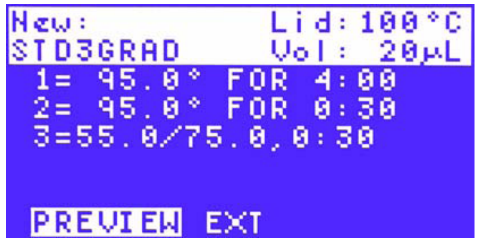
下図では、最新入力したパラメータを確定するために、YES が選択されています。



Option を選択すると、プロトコールを実行する前に温度グラジエントに関するデータをプレビューすることができます（オプション）。

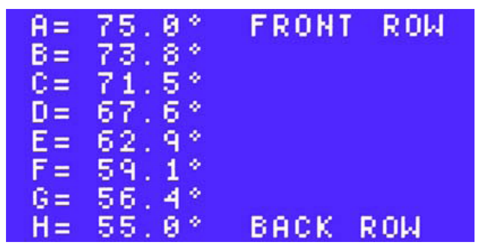


温度グラジエントデータを表示するには、下図で PREVIEW を選択し ENTER を押してください。



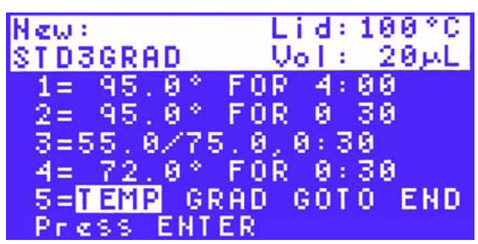
前の画面に戻るには、CANCEL を押します。

下図では、55～75°Cの温度幅のグラジエントが構成されています。この画面では、ブロックの各列の設定温度が表示されます。



7.　プロトコールステップ入力の継続

前述したステップ 5（26 ページ参照）の手順を繰り返し、さらに TEMP ステップを入力します。
下図では、4 つの TEMP ステップが入力されています。



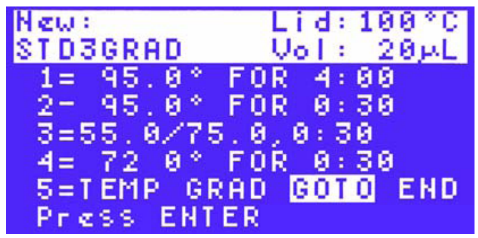
1 つのプロトコールには、最大で 99 のプロトコールステップを含めることができます。ただし、初回ステップは TEMP ステップ、最終ステップは END ステップに限定されます。

8.　サイクルステップの作成（オプション）

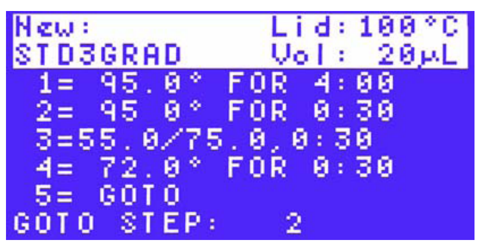
PCR プロトコール中に GOTO ステップを追加することによって、特定のプロトコールを設定回数繰り返すサイクルを作成することができます。GOTO ステップによるサイクル作成に関する詳細は、「プロトコールステップ（60 ページ）を参照ください。

プロトコール作成画面で、矢印キーを用いて GOTO を選択し、ENTER を押して次の画面に進みます。GOTO ステップは、プロトコールの初回ステップまたは最終ステップに設定することができません。プロトコールは、TEMP ステップまたは GRAD ステップから開始し、END ステップで終了しなければなりません。

下図で ENTER を押すと、ステップ 5 が GOTO ステップとなります。



GOTO ステップを設定する場合、最初にサイクルを始めたいステップ番号を設定します。テンキーを使用してステップ回数を入力し ENTER を押し、次の画面に進みます。
下図では、サイクル開始ステップ番号が 2 に設定されています。GOTO ステップによってプロトコールは自動的にステップ 2 に戻り、ステップ 2 とステップ 5（GOTO ステップ）間のステップがリピートされます。



GOTO ステップでの繰り返しの追回数を 1～9999 回の範囲内で入力します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

GOTO ステップによって設定されたサイクル数には初回のステップは含まれません。たとえば 31 サイクルのプロトコールを実行したいのであれば、GOTO ステップの設定では 30 を入力する必要があります。

下図では、GOTO ステップのリピート回数は 30 回に入力されています。この場合、総サイクル数は 31 となります。



入力パラメータを確定するために矢印キーを押し、Yes または No を選択します。GOTO ステップの設定パラメータを確定する場合は Yes を選択します。また、設定をやり直す場合は No を選択し、GOTO ステップパラメータを変更してください。ENTER を押し、次の画面に進みます。



9.　プロトコールファイルの残りのステップ入力

プロトコール作成画面でパラメータを追加して、残りのステップを設定します。必要なステップ設定が完了したら ENTER を押し、次の画面に進みます。

1 つのプロトコールには、最大で 98 の TEMP、GRAD および GOTO ステップを含めることができます。ただし、初回ステップは、TEMP または GRAD ステップに、最終ステップは END ステップに限定されます。

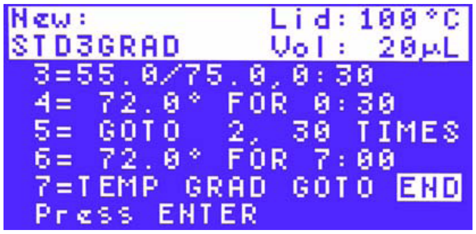
プロトコールの終了時に音を出すように設定するには、最終ステップに BEEP オプションを追加してください (38 ページ) 。

10. END ステップ入力によるプロトコールの終了

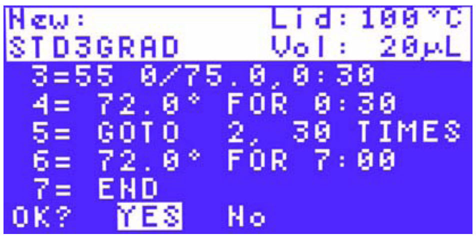
プロトコールに END ステップを設定することによりプロトコールファイルを終了させます。END ステップが、必ずプロトコールの最終ステップとなります。1 つのプロトコールには、END ステップは1回のみしか設定できません。

END ステップを設定するには、矢印キーを用いて END を選択します。さらに、ENTER を押し、次の画面に進みます。

下図では、END ステップが選択されています。



END ステップを確定するために矢印キーを用いて、Yes または No を選択します。プロトコールステップパラメータを確定するには、Yes を選択します。初回ステップに戻り、別のプロトコールステップを新たに選択するには、No を選択します。



11. ファイルツリー内の既存フォルダへの新規プロトコールファイルの保存

作成したプロトコールファイルをフォルダに保存します。

ユーザが個人別フォルダを作成していない場合（プレインストールされている MAIN フォルダしか存在しない場合）、ファイルツリーフォルダ画面は表示されません。必要であれば個人別フォルダを作成してください。

矢印キーを用いて、本装置のフォルダリストからフォルダをひとつ選択します。新たに作成したフォルダまたは MAIN フォルダにプロトコールファイルを保存してください。ENTER を押して、選択したプロトコールファイルを保存します。その後、メインメニューに戻ります。

下図では、GRANT と名付けられたフォルダが選択されています。



MAIN フォルダにプロトコールを保存した場合、FILES>MOVE 機能により、個人別フォルダにプロトコールを移すことができます（75 ページ）。

プロトコールを実行するには、47 ページの「RUN 選択によるプロトコール実行方法」の手順をご参照ください。

INC、EXT、RATE および BEEP パラメータの追加

新しく設定するTEMPステップには、オプションパラメータを最大 4 つまで設定することができます。必要であれば OPTION を選択して、各パラメータを追加してください (26 ページのステップ 5 をご参照ください)。表 9 には、各パラメータを概説し、プロトコールステップ追加方法の記載ページ等を示します。

表 9 TEMP ステップに関する追加パラメータ

Parameter name	Instructions	Description	Range and limitation
Increment (INC)	34 ページ	Changes the target temperature of a step by the specified increment each cycle.	The range is -10 to 10ºC/cycle in tenths of a degree within the temperature limits of a temperature step (0-100ºC). A step with an increment must be within a GOTO repeat in order to increment the temperature with each cycle.
Extension (EXT)	36 ページ	Extends the hold time by the specified number of seconds each cycle.	The range is -60 to 60 seconds/cycle in whole numbers within the time limits of a temperature step (1 second to 18 hours). A step with an extend must be within a GOTO repeat in order to extend the step with each cycle.
Ramp rate (RATE)	37 ページ	Changes the ramping rate.	The range is 0.1 to 5ºC/second in tenths of a degree for temperature steps. Ramp rate can only be changed on the dual 48- and 96-well reaction modules. The default ramp rate is the thermal cycler's maximum rate for the reaction module (see "Interchangeable Reaction Modules" on page 9).
Beep (BEEP)	38 ページ	Instructs thermal cycler to emit a sound when it reaches the target temperature in a temperature step.	No range. Only applies to temperature steps.

TEMP ステップへの増減パラメータの追加 (INC)

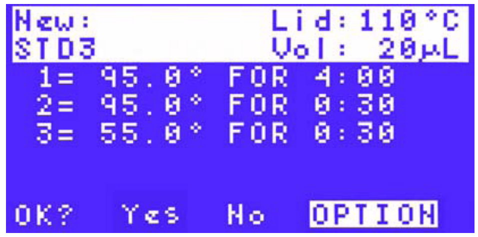
INC パラメータを設定することによって、プロトコールステップで設定した温度をサイクルごとに変更することができます。

以下の手順により、温度増減パラメータを追加してください。

1. OPTION 選択によるTEMPステップのパラメータ追加

TEMPステップ作成画面で左右矢印キーを用いて、OPTION を選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます

下図では、ステップ 3 のパラメータにオプションが追加されます。



INC オプションを使用すると反応の各サイクルで温度が増減していくため、GOTO によるリピート数を考慮して設定する必要があります。

2.　INC オプションによる温度増減パラメータの追加

TEMP ステップの設定画面で左右の矢印キーを用いて、INC パラメータを選択し ENTER を押し、次の画面に進みます。

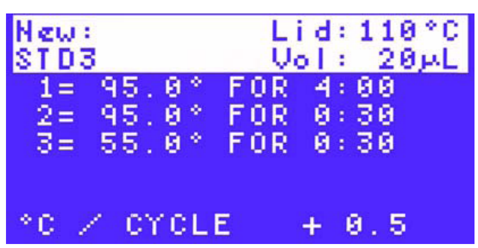


3.　増減温度幅の入力

テンキーを用いて、増減温度を入力します。各サイクルで温度を下げていくためには、CANCEL（—）キーを押してマイナス値を入力してください。小数点を入力するには、PAUSE　(.) キーを押します。さらに ENTER を押し、次の画面に進みます。

温度増減の幅は、TEMP　ステップの制限範囲内（0～100°C）に収まるように、—10.0～10.0°C の範囲で設定します。最小単位は 0.1°C となります。

下図では、温度増減パラメータが＋0.5　°C に入力されています。これにより、ステップ　3　の目標温度は各サイクルで 0.5°C ずつ上昇していきます。



4.　ステップパラメータの確定

矢印キーを用いて、YES または No を選択します。プロトコールステップ 3 に設定した温度増減パラメータを確定する場合は、YES を選択します。プロトコールステップのパラメータを変更する場合は、NO を選択します。

TEMP ステップでの温度保持時間の延長パラメータの追加（EXT）

EXT オプションによって、TEMP ステップまたは GRAD ステップでの保持時間を変更することができます。各サイクルで保持時間の延長程度を増減します。以下の手順により、延長時間パラメータを追加してください。

1. TEMP ステップパラメータ入力後での OPTION 選択

左右矢印キーを用いて、OPTION を選択します。さらに ENTER を押して、次の画面に進みます。下図では、ステップ 3 パラメータに EXT が追加されます。



EXT オプションを使用すると各サイクルで反応時間が増減していくため、GOTO によるリピート数を考慮して設定する必要があります。

2. EXT 選択による各サイクルの温度保持時間の延長

左右矢印キーを用いて、EXT パラメータを選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。



3. 延長時間（秒単位）の入力

テンキーから時間値を入力します。各サイクルの温度保持時間を短縮するには、CANCEL（－）を押し、マイナス値を入力します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

延長時間は、TEMP ステップの設定時間内（1 秒～18 時間）で、－60～＋60 秒/サイクル範囲の整数で入力してください。

下図では、この延長時間が＋1 秒に入力されています。これによって、ステップ 3 の保持時間がサイクル毎に 1 秒ずつ延長します。



4.　ステップパラメータの確定

ENTER を押して増減温度を確定し、ステップパラメータ入力を終了します。プロトコールステップのパラメータを変更する場合は、右矢印キーを用いて No を選択します。変更後、ENTER を押して確定します。

TEMP ステップでの RAMP 速度パラメータの変更 (RATE)

RATE パラメータによって、TEMP ステップの RAMP 速度を変更することができます。RAMP 速度とは、あるステップの目標温度までの加温速度または冷却速度となります。以下の手順で RAMP 速度を変更します。

1.　TEMP ステップパラメータ入力後の OPTION 選択

左右矢印キーを用いて、OPTION を選択します。ENTER を押し、次の画面に進んでください。

下図では、ステップ 3 パラメータに RATE オプションが追加されます。



2.　RATE 選択による RAMP 速度の変更

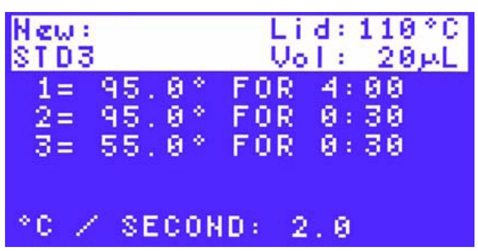
左右矢印キーを用いて、RATE パラメータを選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。



3.　RAMP 速度の入力

テンキーからパラメータを (°C/秒の単位で) 入力します。小数点の入力には、PAUSE (.) を押します。RAMP 速度は、0.1～5°C/秒の範囲で最小単位 0.1°Cにて入力してください。

下図では、RAMP 速度が 2.0 に入力されています。これにより、2.0°C/秒の速度で目標温度に加温・冷却されます。



4.　ステップパラメータの確定

矢印キーを用いて、YES または No を選択します。プロトコールステップ 3 に設定した RAMP 速度を確定する場合は、YES を選択します。プロトコールステップのパラメータを変更する場合は、NO を選択します。

TEMP ステップへの警告音の追加（BEEP）

BEEP オプションを追加することによって、目標温度に達した際に警告音を発生させることができます。BEEP オプションは TEMP ステップのどの段階にも追加することができます。

たとえば時間無制限のホールドまでステップが進んだときに警告音を鳴らしたいのであれば、保持時間＝FOREVER の TEMP ステップに BEEP オプションを追加します。

以下の方法にて、BEEP オプションを追加してください。

1.　TEMP ステップパラメータ入力後の OPTION 選択

左右矢印キーを用いて、OPTION を選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

下図では、ステップ 7 パラメータに警告音が追加されます。



2.　ステップ終了を知らせる警告音の選択

左右矢印キーを用いて、BEEP オプションを選択します。

下図では、ステップ 7 に BEEP オプションが適用されます。



BEEP パラメータは、1 つの TEMP ステップに限り追加することができます。

3.　ステップパラメータの確定

矢印キーを用いて、YES または No を選択します。ステップ 3 のパラメータを確定するには、YES を選択します。同ステップのパラメータを変更する場合は、NO を選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

温度制御モードの設定

サンプルの温度を正確に設定温度まで到達させるためには適切な温度制御が必要です。本サーマルサイクラーでは、2 つの温度制御モードを搭載しています。以下に示す 2 通りの温度制御モードのいずれか一方を使用して、サンプルの温度を制御します。

・カリキュレートモード

1～50 μL（ 384 ウェル用のリアクションモジュールの場合は 30 μL）の範囲でサンプル容量を入力した場合には、サンプル容量を考慮した熱量の計算が行われ、それをもとに温度制御が行われます。カリキュレートモードでは、ほぼ正確にサンプル温度の制御が可能なため、このモードを使用することを推奨します。

・ブロックモード

サンプル容量を 0 μL に入力した場合は、サンプル温度は測定ブロック温度と同等であると自動判定されます。ブロックの温度のみを参照し温度制御をおこないます。

新規のプロトコール作成時に温度制御モードを選択するには、25 ページのステップ 4 をご参照ください。また、プロトコール開始時に温度制御モードを選択する場合は、ステップ 4（41 ページ）をご参照ください。

ヒートリッド温度の決定

ヒートリッドは温度と荷重の程度を制御することができます。リッドを加温することにより、サンプルチューブやプレート内で反応液が蒸発・濃縮することを予防することができます。

プロトコール実行時、ヒートリッドの温度はプロトコールで設定された温度に保たれます。リッドが加熱されなければ、反応液から水分が消失して濃縮が生じる可能性があります。チューブやプレート内で反応物が濃縮します。

ヒートリッドの初期設定温度は 105°C です。

ブロックが「Turn off below」（後述）で設定されている温度以下の条件でホールドされている場合、ヒートリッドは 31.0°C に維持されます。Turn off below の設定値を変更するには、メインメニューから TOOLS > DEFAULTS を選択します（90 ページ）。

EDIT 機能による既存プロトコールの変更

既存プロトコールを変更したい場合には、メインメニューで EDIT を選択してください。これを選択する目的は以下のとおりです。

・プロトコールを一部変更する。

・プロトコールをコピーして編集する。

・プレインストールプロトコールのコピーを変更する。

以下の手順で既存プロトコールを変更してください。

1. メインメニューから EDIT コマンドの選択

矢印キーを用いてメインメニューの EDIT を選択し、ENTER で確定します。



2. 変更するプロトコールの選択

矢印キーを用いてフォルダを選択し、右矢印キーを用いてフォルダ内にあるファイルを 1 つ選択します。さらに ENTER を押し、次の画面に進みます。

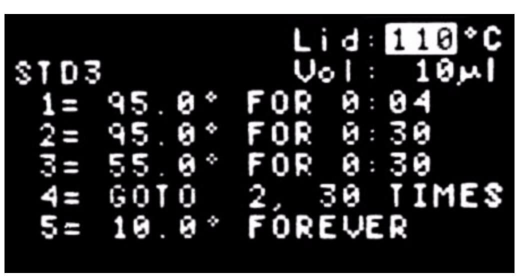
下図では、EVA という名称のフォルダ内から、STD3 という名称のファイルが選択されています。



3. 対象プロトコールでのヒートリッド初期設定値の変更（オプション）

テンキーを用い、新たにヒートリッド温度を入力します。さらに ENTER を押し、次の項目に進みます。

下図では、ヒートリッド温度が 110°C に変更されています。



4.　サンプル容量の変更（オプション）

テンキーを用い、サンプル容量を入力します。ENTER を押して、次の項目に進みます。1〜50 μL の範囲でサンプル容量を入力すると、カリキュレートモードが自動選択されます（標準モード）。0 と入力すると、ブロックモードが自動選択されます。温度制御モードの詳しい説明は、25 ページをご参照ください。サンプル容量はプロトコールを実行するたびに変更することができます。

下図では、サンプル容量は 20 μL であり、変更は行われていません。



5. 変更するプロトコールステップの選択

上下矢印キーを用い、変更したプロトコールステップを選択します。ENTER を押して、ステップを決定します。下図では、ステップ 4 が選択されています。



6. 変更方法の選択

この画面では、4 種類の変更方法が表示されます。この画面から矢印キーを用いて、いずれか 1 つ選択します。

・INS：選択したプロトコールステップの一つ前にステップを 1 つ挿入します。（41 ページの 7 参照）.
・DEL：選択したプロトコールステップを消去します。（43 ページの 8 参照）
・EDIT：選択したプロトコールステップのパラメータを変更します。（43 ページの 9 参照）
・OPTION：選択したプロトコールステップにパラメータを追加します。（45 ページの 10 参照）

TEMP ステップを GRAD ステップに変更するには、まず INS を選択して GRAD ステップを挿入した後、DEL を選択してその TEMP ステップを消去します。

プロトコールの変更を終了するには、CANCEL キーを数回押してください。
「Save Changes?（変更分を保存しますか）」との質問が画面に表示されている状態で、YES を選択することで変更分が保存されます。NO を選択すると、変更した内容は消去されます。

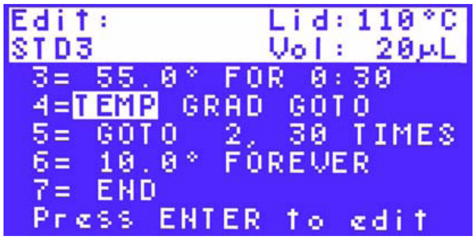
7.プロトコールステップ の挿入（オプション）

INS を選択して、選択したステップの一つ前にプロトコールステップを挿入します。ENTER を押して、次の画面に進みます。

下図では、ステップ 4 の一つ前に新しいステップが 1 つ挿入されます。



挿入するプロトコールステップの種類を選択します。ENTER を押して、次の画面に進みます。下図では、TEMP ステップが選択されています。



ステップパラメータを入力します。ENTER を押して、各パラメータを確定します。

下図では、目標温度が 72°C に入力されています。



必要であれば Option を選択して、ステップパラメータを追加入力します。たとえば、この TEMP ステップに温度増減または延長時間のパラメータを追加することができます。

下図では、追加した 72°C のステップにパラメータを追加するために、OPTION が選択されています。詳しくは、34 ページの「INC、EXT、RATE および BEEP パラメータの追加」の項をご参照ください。

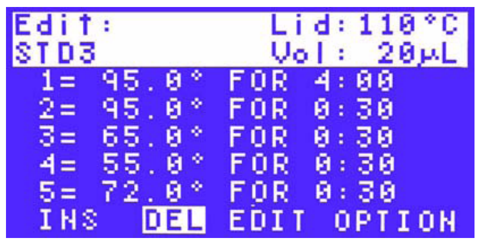


新しいステップのパラメータを確定します。ENTER を押して、各パラメータを確定します。下図では、目標温度が 72°Cに設定されたプロトコールが追加されています。



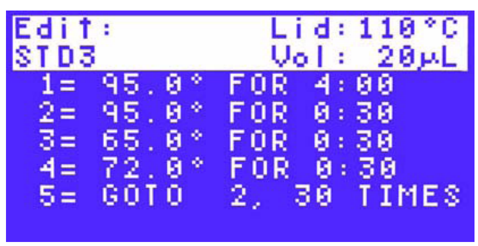
8. プロトコールステップの消去（オプション）

選択したプロトコールステップを消去するには、DEL を選択します。ENTER を押して、次の画面に進みます。



選択したステップを消去します。ENTER を押してそのステップを消去し、次の画面に進みます。消去したステップの分、次のステップが繰り上がります。

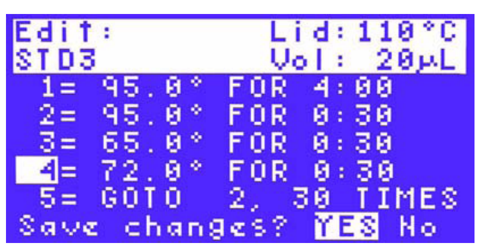
下図では、ステップ 4 が消去された結果として、ステップ 5 のパラメータがステップ 4 に、ステップ 6 のパラメータがステップ 5 にそれぞれ移動しています。



消去の確定

消去分を確定します。「Save Changes?（変更分を保存しますか）」と画面に表示されていれば、左右矢印を用いて、Yes または No を選択します。Yes を選択して ENTER を押せば、そのステップが消去されます。No を選択して ENTER を押せば、そのステップの開始点に戻ります。

下図では、YES が選択されています。



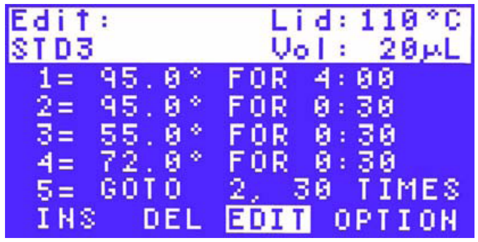
9.プロトコールステップの変更（オプション）

EDIT を選択して、既存のプロトコールステップのパラメータを変更します。

EDIT を選択した場合は、選択したプロトコール ステップパラメータを変更することができます。

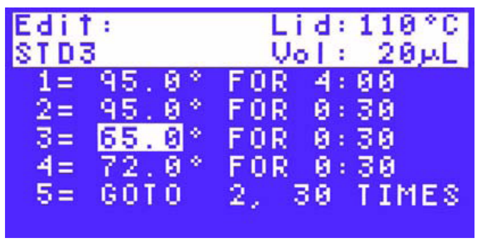
別のプロトコールステップのパラメータを変更するには、矢印キーを選択してください。

下図の例ではステップ 3 を変更します。元のパラメータは 55.0°Cであることに注目してください。



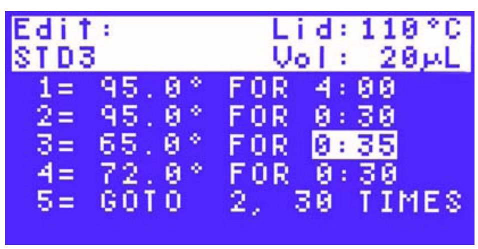
このステップ 3 のパラメータを変更します。コントロールパネルのキーを押し、変更したい温度を入力します。さらに ENTER を押して、次のパラメータに進みます。

下図では、温度が 55°Cから 65°Cに変更されています。



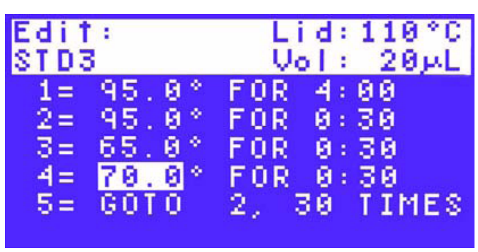
さらに、ステップの 2 番目のパラメータである保持時間を変更します。テンキーを用い、新たにパラメータを入力します。ENTER を押して、次のステップに進みます。

下図では、保持時間が 35 秒に変更されています。

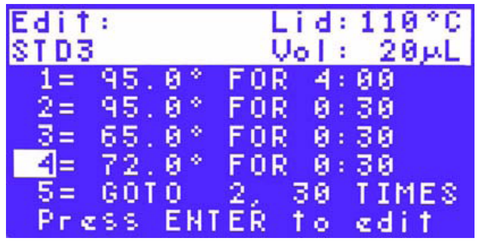


必要であれば続けて、他のステップの既存パラメータを変更します。上下矢印キーを用い、プロトコール内の他のステップを選択します。

下図では、ステップ 4 で温度パラメータが 70.0°Cに変更されています。

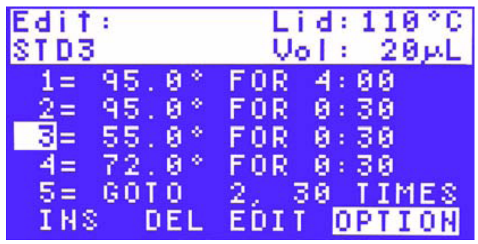


ENTER を押して、このパラメータ変更を終了します。さらにプロトコール変更を続けます。下図では、ステップ 3 への変更が完了し、ステップ 4 が選択されています。



10. 既存プロトコールステップへのパラメータ追加（オプション）

プロトコールステップを選択した後、さらに OPTION を選択してプロトコールステップのパラメータを変更します。さらに ENTER を押し、次の画面に進みます。

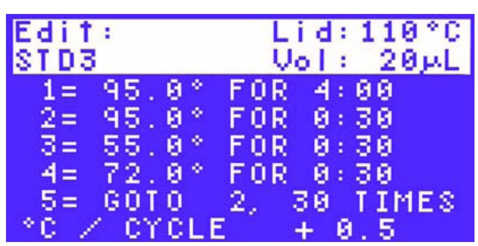


INC を選択し、選択したステップに温度増減パラメータを追加します。さらに ENTER を押して、次の画面に進みます。下図では、ステップ 3 が選択されています。



該当するテンキーを押して、温度増減パラメータを入力します。さらに ENTER を押して、次の画面に進みます。

下図では、温度増減パラメータが＋0.5℃/サイクルに入力されています。



入力パラメータを確定します。左右矢印を用いて、Yes または No を選択します。変更を保存する場合は Yes を選択し、そのステップの開始点に戻るには No を選択します。その後は ENTER を押して、次の画面に進みます。



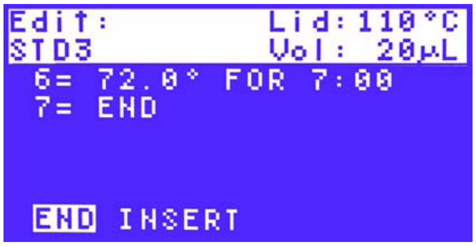
11. プロトコール変更の終了

変更を終了するには、プロトコールの最終ステップとなる END ステップを選択します。下向き矢印キーを用いて END ステップ番号を選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

プロトコールを終了するには END を選択してください。

左向き矢印キーを用いて、END を選択します。ENTER を押し、プロトコール変更を終了します。

下図では、END が選択されています。



既存プロトコールの実行

S1000 サーマルサイクラーは簡単にプロトコールを実行することができます。プロトコールを実行するには、メインメニューから RUN を選択し、希望のプロトコールを選択します。プレインストール済みの標準プロトコールを使用することにより速やかに PCR 反応を行うことができます。
本章では、プロトコールの実行方法のほか、単一温度設定によるサンプルのインキュベートを目的とした INCUBATE 機能に関しても解説します。

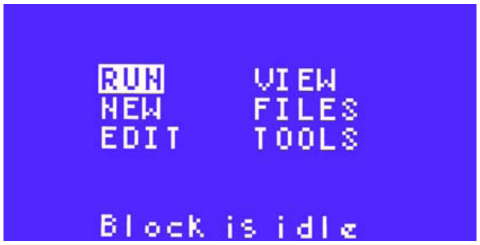
・プロトコールの実行とモニタリング
・SCREEN キー操作によるプロトコールのモニタリング
・PAUSE キー 操作によるプロトコールの一時停止と再開
・実行中のステップのスキップ
・CANCEL キー操作によるプロトコールの中断
・INCUBATE キー操作による単一温度での簡易サンプルインキュベート

プロトコールの実行

メインメニューから RUN を選択することにより、既存プロトコールを迅速に選択し実行することができます。ファイルツリーから MAIN フォルダまたはユーザフォルダからインストール済みのプロトコールを選択します。

以下の手順により、プロトコールを実行してください。
1.メインメニューでの RUN 選択およびブロックでのサンプルへの荷重
メインメニューに「Block is idle」(ブロックが休止状態にある) が表示されていることを確認した後、矢印キーを使用して RUN を選択します。続けて希望するプロトコールを選択します。最後に、ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。
ブロック内にサンプルを設置します。ヒートリッドを閉じて、リッドに荷重します。以下の状態が得られるようヒートリッドに対し十分に荷重します。
・チューブまたはマイクロプレートがブロック内に十分に密着するように荷重されている。
・サンプル蒸発が予防できるように、ヒートリッドが確実に閉じられている。

下図では、RUN が選択されており、ブロックが休止状態にあります。



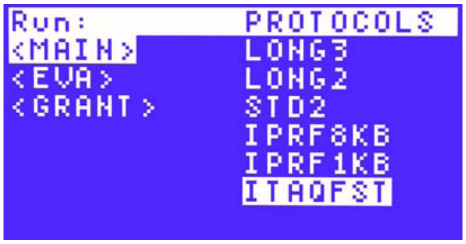
参考:デュアル 48 ウェルリアクションモジュールを用いた場合、両ブロックとも休止状態である場合に、「Blocks are idle」とのメッセージが画面に表示されます。

2. プロトコールの選択

矢印キーによってフォルダを選択した後、右矢印キーを用いてファイルを選択します。プレインストール済みプロトコールを使用する場合は、MAIN フォルダより選択してください。最後に ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。

実行中のプロトコールはパラメータ等を変更できません。実行中のプロトコールの変更分は、次回の操作を行う際に適用されます。

下図では、MAIN フォルダからインストール済みプロトコールである ITAQFAST が選択されています。このプロトコールは、iTaq ポリメラーゼを使用した迅速な PCR 用のプロトコールです。



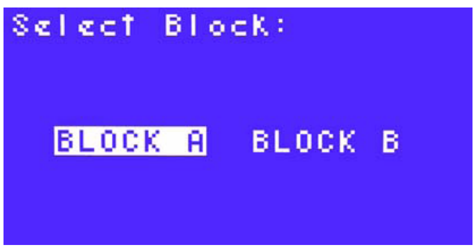
実行することができるプロトコールはパスワード保護を用いていないフォルダにあるものに限ります。フォルダのファイル保護に関する詳細は、79 ページの「SECURE 機能によるフォルダ内ファイルの保護方法」をご参照ください。

3. ブロックの選択（デュアル 48 リアクションモジュールの場合のみ）

デュアル 48 ウェルリアクションモジュールを使用している場合のみ、左右矢印キーを用い、BLOCK A または BLOCK B のいずれかを選択します。ENTER を押して、次の画面に進みます。

デュアルリアクションモジュールの場合、左側が Block A となります。

下図では、BLOCK A が選択されています。



ブロックが選択されると、リアクションモジュール上の LED が点灯します。

4.サンプル容量の入力

入力したサンプル容量に応じ、温度制御モードが決定されます（39 ページ）。カリキュレートモード（標準モード）を使用するには、使用するサンプル容量を入力してください（入力可能範囲：1μL～50 μL）。ブロックモードを使用する場合は、0 を入力してください。

カリキュレートモードは、ほぼ正確にサンプル温度の制御が可能なため、このモードを使用することを推奨します。

下図では、サンプル容量が初期設定値である 10μL となっているため、カリキュレートモードで温度制御が行われます。本制御モードでは、計算上のサンプル温度が目標温度に達するように制御が行われます。



デュアルブロックでプロトコールを実行する場合は、「Run ITAQFST on A」のようなメッセージが表示されます。TAQFST がプロトコール名称であり、A はブロックを示します。

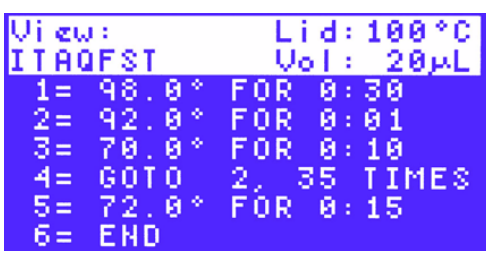
サンプル容量が初期設定値と異なる場合、テンキーを用いてサンプル容量を入力してください。
ENTER を押して、次の画面に進みます。
下図では、サンプル容量が 25 μL に変更されています。



5.VIEW 選択による反応実行前のプロトコールの確認（オプション）
メインメニューで左矢印キーを用いて VIEW を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



プロトコール全体を確認するには、ENTER を押してプロトコール内のステップを下方へスクロールします。最終ステップまで確認した後、再び ENTER を押して終了します。
下図では、ITAQFST プロトコール内のステップが表示されています。



6. RUN 選択によるプロトコールの実行開始

メインメニューで矢印キーを用い、RUN を選択します。ENTER を押してプロコールを開始します。



PCR 反応を成功させるためには、迅速にサンプルを加熱･冷却することが必須となります。このたに必要な排気量を確保するため、本体の通気口をふさがないでください。また、本体周辺に他の装置や物品等を置かないでください（100 ページ）。

7. プロトコールのモニタリング（オプション）

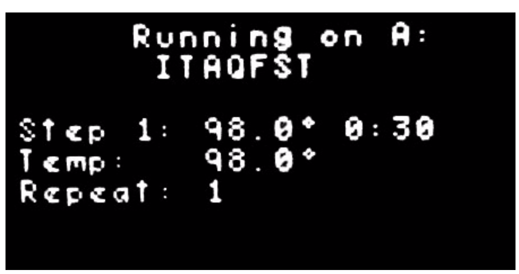
RUN を選択するとメインメニューの画面下に現在の状況が表示され、プロトコールが進んでいることがわかります。

<Screen>キーを押すと現在進行中のプロトコールが表示されます。この画面には、上部にステップパラメータ、下部に現在のステップ状況が表示されます。

下図では、プロトコールのステップ 1 を実行する準備段階で、ヒートリッドを加熱しており現在のリッド温度は 56°C と表示されています。



ヒートリッドが目標温度の 10°C以内に加熱された段階で、プロトコールの初回ステップが開始されます。下図では、初回サイクルのステップ 1 を実行中であり、ブロックが 98°C に加熱されています。

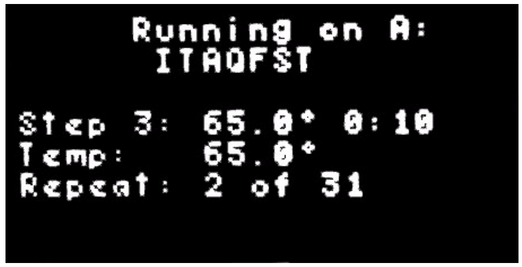


参考：目標温度に達した時点で自動的に警告音を発生させるには、ステップに BEEP オプションを追加します（38 ページ）。

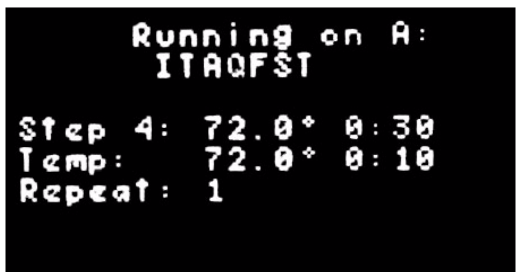
サンプルが目標温度に達すると、そのステップの総保持時間が計算され始めます。

プロトコールが実行された後は、複数の画面でプロトコールの進行状況を確認することができます。各画面を確認するには、SCREEN キーを押してください。このキーを押すごとに、実行状況を示す各画面が表示されます（52 ページ）。

初回サイクルが終了すれば、GOTO ステップでのリピート（繰り返し）が表示されます。下図では、サイクル 2 を実行中であり、総サイクル回数は 31 回となります。



GOTO ステップでのリピート（繰り返し）回数は、初回サイクルには含まれません。総サイクル数はリピート回数＋1 回となります。最終 TEMP ステップが実行されている場合、プロトコールは終了となります。下図では、最終 TEMP ステップはステップ 4 となります。



8. プロトコール完了画面の確認

プロトコールが終了すれば、 画面に「Protocol complete」のメッセージが表示されます。これを確認した後、ENTER を押してメインメニューに戻ります。

下図では、ITAQFST プロトコールの実行時間の合計が 10 分 53 秒と表示されています。



9. LAST RUN 画面の確認（オプション）

メインメニューで SCREEN キーを押すことで LAST RUN 画面を確認することができます。
この画面には、最後に実行したプロトコールの概要が表示されます。再び SCREEN キーを押せば、メインメニューに戻ります。

デュアル 48 ウェルモジュールのブロックの場合には、SCREEN キーを再び押して、ブロックごとに LAST RUN 画面を確認してください。

LAST RUN 画面には、PCR 操作に関するトラブルシューティングに有用な情報も表示されます。
RCR 操作の最適化に関する詳細は、59 ページをご参照ください。
下図では、最後に実行した ITAQFST プロトコールがの概要が表示されています。



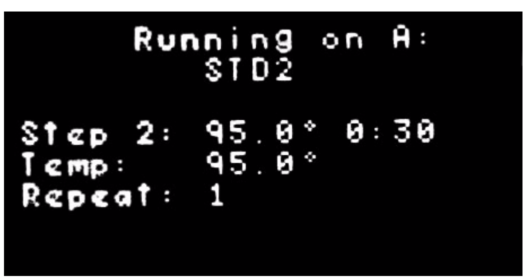
LAST RUN 画面は、TOOLS コマンドから選択することもできます（80 ページ参照）。

10. SCREEN キーを押し、メインメニューに戻ります。

SCREEN キーによる実行状況のモニタリング

プロトコール実行時には、3 種類の画面のうちいずれかで実行状況をモニタリングすることができます。画面の切り替えには、SCREEN キーを押します。
デュアル 48 ウェルリアクションモジュールを使用する場合は、ブロック A の画面に続き、ブロック B の画面が表示されます。両画面の切り替えには、SCREEN キーを押します。
SCREEN キーを押すごとに、メインメニューに続いて以下の 3 つの画面が表示されます。

1.Running スクリーン
この画面には、現在のステップパラメータ、温度、保持時間およびサイクル数が表示されます。下図では、STD2 という名称のプロトコールのステップ 2 が実行中であり、現在のサイクル数は 2 となります。 現在の温度は 95.0°C、現在の保持時間は 30 秒となっています。

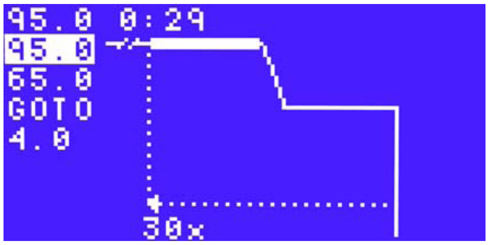


2.グラフ画面

この画面には、プロトコールの各ステップでの目標温度の関係がおおまかに表示されます。各ステップは、温度の表示のみとなります。

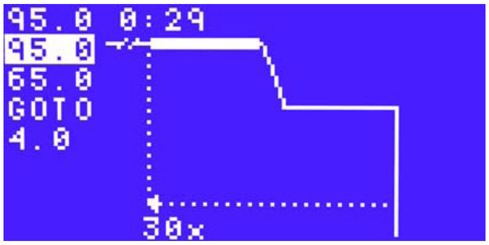
現在のステップについては、グラフ上の温度を示すラインが強調表示されます。グラフ上で現在の保持時間も点滅し、総保持時間がカウントされます。

下図では、プロトコールに、GOTO ステップを加えた都合 5 つのステップが含まれています。ステップ 2 が現在実行されており、その温度は 95.0°C にあります。



GOTO ステップについては、グラフ上で GOTO ステップでのリピート範囲が関連ステップとつながれた点線で示されます。なお、GOTO ステップでの総リピート回数は、点線下に表示されます。

下図では、GOTO でのリピートがステップ 2 とともに開始され、30 回繰り返されます。この GOTO のリピートステップには、ステップ 2 とステップ 3 が含まれます。



3. プロトコール残時間の画面

この画面には、プロトコール終了までの残時間が表示されます。

下図では、プロトコールの残り時間は 33 分 24 秒となります。



残時間の計算は、各プロトコールステップの保持時間および目標温度への加温･冷却に必要な時間を含みます。なお、保持時間が無限大のホールドステップはこの計算に加味されません。

デュアル 48 ウェルモジュールのブロックの場合には残時間、その他の情報はブロックごとに表示されます。

PAUSE キーによるランの中断および再開

一時的にプロトコールを中断したい場合は、PAUSE キーを使用します。中断されている間は、ブロック温度が現在の目標温度にキープされます。その際、ブロック温度が目標温度に達していなければ、同値に達するまで引き続き自動的に加熱または冷却されます。

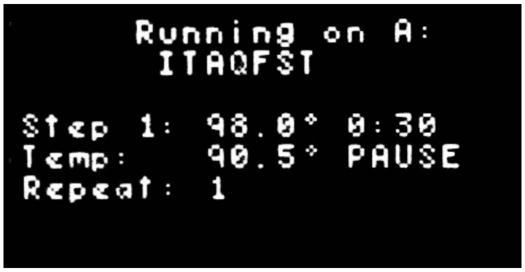
注意！：プロトコールの中断は、PCR 操作の結果に変化を及ぼす可能性があります。TEMP ステップ中に一時中断することは、そのステップの保持時間を延長したことを意味します。

以下の手順により、プロトコールを中断・再開してください。

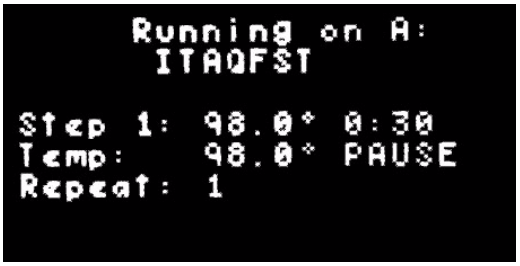
1. PAUSE キーによるプロトコールの中断

プロトコール実行中に PAUSE キーを押します。中断すると、画面の時間表示部位に「PAUSE」の文字が表示されます。

下図では、サイクル 1 のステップ1が中断され、温度は目標温度に向けて上昇しつづけています。



ステップの温度が目標温度に達していれば、中断している間はその温度が維持されます。



2. PAUSE キーの再入力によるプロトコールの再開

PAUSE キーを再び押すと、Running 画面またはグラフ画面が表示されてプロトコールが自動的に再開されます。

下図では、ステップ 1 が再開され、保持時間が 0 秒から 30 秒までカウントされ始めます。



ステップのスキップ

プロトコール内のステップをスキップしたい場合は、スキップ対象となるステップの実行している間に ENTER キーを押しことで次ステップが自動的にスキップされます。

なお C1000 サーマルサイクラーによって制御している場合を除き、S1000 では GOTO リピートステップはスキップすることができません。

以下の手順により、プロトコールのステップをスキップしてください。

1. スキップ対象となるステップ実行時の ENTER キー入力

現在実行中のステップを自動的にスキップさせるには、ENTER キーを押します。次に、左右矢印キーを用い、Yes または No を選択します。最後に、ENTER をもう一度押して確定します。

2. 次ステップの実行の確認

目的のステップがスキップされたことを画面で確認します。

下図では、ステップ 3 の 4 回目のサイクルが実行されています。



CANCEL によるプロトコールの中止

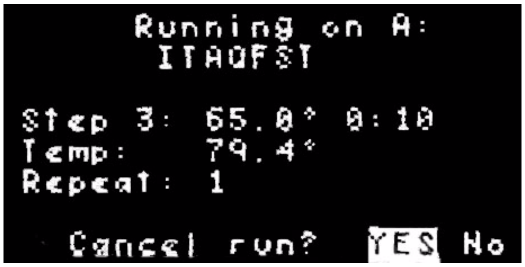
プロトコールの実行を中止する場合は CANCEL を押します。プロトコール実行中であれば、いずれの時点であっても中止することができます。プロトコールが中止されると、ブロック内の温度変化が止まります。

以下の手順により、プロトコールの実行を中止してください。

1.CANCEL キー使用と YES 選択

CANCEL を押し、左右矢印キーで YES または No を選択してください。さらに、ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。

下図では、YES が選択されています。



デュアル 48 ウェルリアクションモジュールでは、メインメニューから CANCEL キーを押す場合に、あらかじめキャンセル対象となるブロックを選択してください。

2.ENTER キーによるプロトコール中止と PROTOCOL CANCELLED 画面の確認

ENTER を押してプロトコール中止を確定します。画面には、「PROTOCOL CANCELLED」のメッセージが表示されます。この画面には、総実行時間も表示されます。

下図では、2 分 57 秒間、プロトコールが実行されました。



3.ENTER を再び押してメインメニューに戻ります。

INCUBATE キーによるサンプルのインキュベート

単一温度条件でサンプルをインキュベートするには、INCUBATE (0) キーを押します。インキュベーションが一旦開始されれば、中断するまで温度が保持されます。インキュベーションを中止する場合は、CANCEL キーを押します。

注意！：オーバーナイトで、サンプルを高温でインキュベートしないでください。高温条件でチューブまたはマイクロプレートを加熱すると、サンプル液が蒸発するおそれがあります。

以下の手順によって、サンプルをインキュベートしてください。

1. ブロック内へサンプル設置と INCUBATE キーの使用

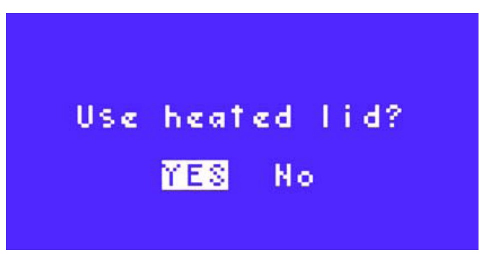
インキュベーションを行う場合には、サンプル設置後に INCUBATE キーを押します。

デュアル 48 ウェルリアクションモジュールを使用する場合は、次画面に進む前にサンプルを設置したブロックを選択します。

2. ヒートリッド温度の設定

インキュベーション時にヒートリッドを加熱するには、YES を選択し、ENTER 確定します。ヒートリッドを加温しない場合は、NO を選択し、ENTER 確定します。

下図では、YES が選択されています。



ヒートリッドを加熱させたい場合は、引き続き温度を入力します。ENTER キーを押すと、ヒートリッドの初期設定温度が自動的に設定されます。新たにヒートリッド温度を設定するためには、テンキーを使用して入力してください。

下図では、ヒートリッド温度が 100°Cに設定されます。



3. インキュベーション温度の入力

インキュベーション温度の初期設定値である 75°Cを適用する場合は、ENTER キーを押します。新たにインキュベーション温度を設定する場合は、0.0～100.0°Cの範囲で入力してください。小数点の入力には、PAUSE (.) キーを使用します。数字を消去するには、CANCEL キーを押してください。

下図では、インキュベーション温度が 95°Cに設定されています。



4. インキュベーションの開始

ENTER キーを押して、インキュベーションを開始します。

下図では、95°Cでインキュベートされています。

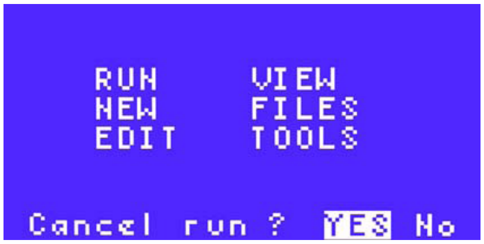


インキュベーション時にも、メインメニュー上で RUN 以外の機能を選択利用することが可能です。インキュベーションを行うブロックでプロトコールを実行することはできません。

5. CANCEL キーによるインキュベーション中止

CANCEL キーを用いてインキュベーションを中止します。YES または No を選択します。インキュベーションを中止する場合は YES を、中止しない場合は No を選択します。最後に ENTER でメインメニューに戻ります。

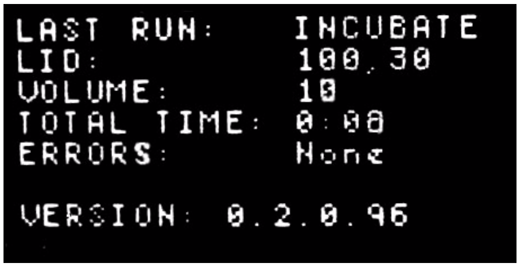
下図では、YES が選択されています。



6. インキュベーションパラメータの確認

インキュベーションに関するパラメータを確認するには、SCREEN キーを 3 回押し、Last Run 画面を表示します。(プロトコール実行に関するパラメータを表示するには、SCREEN キーを 2 回押して LAST RUN 画面を表示します。)

下図では、ヒートリッド温度が 100°Cで、インキュベーション時間 8 秒、ファームウェアバージョンは 0.2.0.96 であることがわかります。



S1000 サーマルサイクラーによる PCR 最適化

PCR を再現性よく成功させるためには、PCR の反応を最適化することが必要です。こうした最適化の方法としては、最も適合する試薬を選択する、プロトコールの各ステップで最も効率的な温度および保持時間を選択することなどがあげられます。本章では、以下に示すとおり、本システムによって PCR プロトコールを最適化する方法のほか、推奨される PCR 用消耗品について解説します。

本章概要

・Fast PCR プロトコールの最適化
・グラジエント機能を使用することによる反応の最適化
・少量のサンプルへの対応
・他のサーマルサイクラーへのプロトコールのデータ移動
・PCR のトラブルシューティング
・マイクロプレート、シーリング、チューブおよびキャップなどの PCR 純正消耗品の選択

プロトコールを最適化する方法として、適正な試薬および酵素の選択、PCR プロトコールパラメータの見直しなどがあげられます。FAST PCR のプロトコール最適化に関する詳細については、以下に示すインターネットサイト(英文)等をご参照ください。試薬の最適化のほか、本章で示した PCR プロトコール最適化に関するアドバイス情報等が得られます。

・Gene Expression Gateway (bio-rad.com/genomics):このウェブサイト上にて Application Techniques > Quantification > Fast PCR のページを選択してください。

Fast PCR プロトコールの最適化

Fast PCR のプロトコール最適化により、プロトコールの実行時間を 1/3 に短縮することができます。これとは対照的に、一定のサーマルサイクラーで同じプロトコール条件にて加温・冷却の Ramp 速度を上げても、数分程度しか実行時間は短縮されません。また、速度面でプロトコールを最適化することによって、より優れた RCR 産物を得ることが可能となります。

C1000 サーマルサイクラーまたは C1000 マネージャーソフトウェアの Auto Protocol Writer を使用することで最適化されたプロトコールを自動的に作成することができます。C1000 サーマルサイクラーの制御下で本システム(S1000)のプロトコールを実行し、両サーマルサイクラーで使用するプロトコールを Auto Protocol Writer を使用して作成してください。
(S1000 単体で使用する場合には Auto Protocol Writer の機能は使用できません。)

以下のガイドラインを参考に S1000 サーマルサイクラーの機能を設定して PCR プロトコールの最適化をおこない、実行時間を短縮してください。

・変性ステップの短縮

初回変性ステップでは、2 回目以降の変性ステップに比べて保持時間を長く設定する必要があります。ステップ間で保持時間が異なるのは、ポリメラーゼの活性化が必要であることや、初回 DNA テンプレートが長いといった理由によります。PCR 対象となる核酸が一旦増幅されれば、変性しやすい短いテンプレートのアンプリコン（単位複製配列）が得られます。

ステップを短縮するために、標的配列が 500 塩基対（bp）未満場合は変性ステップを 1 秒に設定してください。その後、1 秒間の変性によってアンプリコンが十分に得られていることを確認します。また、最良の保持時間をチェックする他の方法として、変性ステップに温度増減パラメータを追加する方法もあります。

・アニーリングおよび伸長ステップをまとめた 2 ステップ・プロトコールの作成

多くのポリメラーゼでは、通常のアニーリング温度幅（55～70°C）でも伸長反応が継続します。2 ステップのプロトコールによって、総実行時間を短縮することができます。具体的には、アニーリングステップと伸長ステップを 1 つのステップにまとめます。2 ステップのプロトコールであっても、最大で 200 bp の標的配列であれば 3 ステップ・プロトコールと同程度の収率を得ることが可能です。

2 ステップのプロトコールを作成するには、アニーリングの TEMP ステップを延長し、伸長ステップを削除します。

さらに、アンプリコンの長さに基づいてアニーリングステップの保持時間を調整します。標的配列 100 bp あたり 10 秒の保持時間が目安となります。グラジエント機能を使用することによりアニーリング温度を最適化し、最も好ましいグラジエントデータから最終的なアニーリング温度を決定することもできます。

実施例については、「GRAD ステップ追加による TEMP ステップの最適化」（62 ページ）をご参照ください。アニーリングステップはその反応の特異性を決定するため、最適化をおこなう必要があります。アニーリング温度が高すぎると十分にプライマーが結合せず、逆に低すぎると PCR 収率の低下、プライマーのミスマッチ、非特異的増幅などが生じるおそれがあります。

・TEMP ステップの最適化による温度増減にかかる所要時間の短縮

プロトコールで連続する 2 つのステップ間の温度差が大きくなると、次の目標温度に達するまでの時間が長くなります。したがって、連続するステップの目標温度の差をできる限り少なくすることによって、総実行時間を短縮することができます。

目標温度の差を最小限にするためには、GRAD ステップを追加してください。まず、アニーリングおよび伸長 TEMP ステップ間の差を最小限に抑えます。グラジエントによる結果から、PCR 収率に影響が及ばない最高のアニーリング温度を特定してください。実施例については、「GRAD ステップ追加による TEMP ステップの最適化」（62 ページ）をご参照ください。最終的に、伸長温度との差が最小となるアニーリング温度を選定します。

・最終伸長ステップの短縮

最終伸長ステップにより、アンプリコンの合成が完了します。PCR 終了時に目的の長さのアンプリコンを高収率で得たい場合は、伸長ステップを最適化する必要があります。各サイクル時間において、一般的な伸長ステップ時間は 30 秒となります。30 秒間の反応時間で十分である場合には、伸長ステップの保持時間を延長する必要はありません。

最終伸長ステップを短縮するには、 100～1000 bp の標的配列に対し 30 秒～2 分の範囲で保持時間を設定します。その後、選択した保持時間で十分に増幅するかどうか確認します。最良の保持時間をチェックする他の方法として、伸長ステップに温度増減パラメータを追加する方法もあります。

・GOTO ステップでのリピート（繰り返し）回数の抑制

プロトコールのサイクル数を少なくするために、GOTO ステップでのリピート回数を抑制してください。サイクル回数を調整するにあたっては、PCR テンプレート濃度を推算しておく必要があります。未知のテンプレート濃度を推定するには、まず 30～45 サイクルで PCR を開始してください。その後、EtBr 染色したゲル内の PCR 産物を検出することによって、開始時の濃度を推定します。十分な濃度が得られいた場合は、サイクル回数を 5 回ほど短縮し、PCR を再実行してください。標的配列の濃度が判明すれば、PCR 産物の濃度が低くくなり過ぎない回数までプロトコールでのサイクル回数を抑えることができます。こうした反応の結果に基づいて GOTO ステップでの最適リピート回数を選択してください。

GRAD ステップ追加による TEMP ステップの最適化

十分な反応とクリーンな PCR 産物を得るために、アニーリングの TEMP ステップを最適化することは必須です。このステップの最適化には、グラジエント機能（GRAD ステップ）を使用します。また、他の TEMP ステップの最適化にも同機能を適用できます。
以下に推奨される手順により、アニーリングの TEMP ステップを最適化してください。

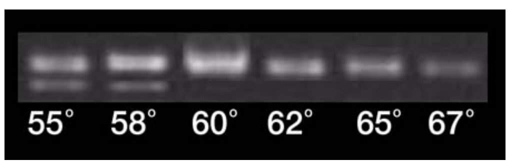
1. プライマーおよびテンプレート DNA の融解温度（Tm 値）からの予測アニーリング温度の算出
Tm 値算出機能を用いて、プライマーおよびテンプート組み合わせの Tm 値を明らかにします。C1000 サーマルサイクラー制御下で S1000 サーマルサイクラーする場合は、C1000 サーマルサイクラーに装備される Ta 算出機能を使用してください。

2. アニーリングステップ内に GRAD ステップを入れた PCR プロトコールの作成
グラジエントの温度幅は、最適なアニーリング温度が確認できるように広く選択するとともに、算出した Ta を 5～12℃の範囲でひとまとめにします。たとえば、算出した Ta が 55℃、であれば、この Ta をひとくくりにするため 20℃の温度幅にあるグラジエントを用います。この場合、グラジエントは温度幅 45～65℃となります。

本サーマルサイクラーのグラジエントの最大可能温度幅は 24℃となります。

3. GRAD ステップを加えた PCR プロトコールによるアニーリング温度の選択
アニーリング温度を高温に設定することにより、非特異的なプラマー結合率を低下させることができます。GRAD ステップを使用した PCR の実行結果を参照し、高めのアニーリング温度を選択してください。グラジエントの作成に関しては、本ページのステップ 2 を参照してください。

下図では、温度幅 55～67℃のグラジエントで PCR が行われています。最適なアニーリング温度は 60℃であることがわかります。



PCR 反応の開始時には、アニーリング温度を最も高く設定し、その後、1～2℃ほど温度を下げます。なおアニーリング温度は必要以上に高温に設定しないでください。より高値に設定すると、PCR 産物の収率が低下し、結果として弱いバンドが発生します。また、プライマーがランを行う間に不均一になる可能性もあります。

4. アニーリングステップでのグラジエント温度幅の縮小（オプション）
先におこなった温度幅の広いグラジエントから得られた結果に基づいて、アニーリング時のグラジエント温度幅を小さくした反応を行います。ステップ 3 で選択したアニーリング温度を±5°Cの温度幅で設定します。この温度幅のグラジエントから良好な結果が得られた最高温度を最終アニーリング温度として設定してください。

たとえば、ステップ 3 で良好な結果が得られた最高温度が 60°Cであれば、より範囲狭い±5°Cの温度幅のグラジエントを設定します。この場合、より幅の狭いグラジエントは 55〜65°Cとなります。このグラジエントのテストで良好な結果が得られた最高温度を最終アニーリング温度に設定してください。

微量サンプル使用時のラン最適化

微量サンプルを用いてランを行う場合には、サンプルの蒸発や凝縮が生じないように最適化してください。10 μL未満のサンプル容量でPCRを最適化するためには、以下の項目を検討することが推奨されます。微量サンプルによる PCR 最適化に関する方法としてご参照ください。

・ワックスシーリングによる蒸発の管理
Chill-out™ Liquid Wax などのワックスシーリング材料は、蒸発を防止するうえで最適なツールとなります。キャップやフィルムにワックスを追加使用することにより、蒸発防止効果は高まります。
・アニーリング温度の再最適化による非特異的なプライミングの防止および標的増幅反応の向上
微量サンプル（10 μL 未満）でプロトコールを実行する場合、アニーリング温度をもう一度最適化してください。ミスプライミングや PCR 増幅不良が認められるが、試薬がその原因ではない場合、グラジエントによってアニーリング TEMP ステップを再度、最適化してください。

・ヒートリッド温度の低下によるサンプル蒸発量の低減
ヒートリッドによってマイクロプレートやチューブのサンプル凝縮を予防します。特に少量サンプルではこの設定はきわめて重要となります。しかし、サンプル量が微量である場合にヒートリッド温度を変更しなければ、蒸発の程度が高まるおそれがあります。こうした蒸発を防止するため、一度ヒートリッド温度を下げ、蒸発が生じていないことを確認してください。

・384 ウェルのリアクションモジュールの使用
384 ウェルブロックは微量のサンプル容量用として最適化されるタイプであるため、最も適したブロックとなります。

他のサーマルサイクラーからのプロトコール移行

他のサーマルサイクラーから S1000 サーマルサイクラーに PCR プロトコールを移行して同一の結果を得るためには、ステップでのランプ速度を調整しなければならない場合があります。C1000 よりもランプ速度の遅いサーマルサイクラーの条件を C1000 に適用して PCR 反応を行っても、同じ PCR 反応が得られなかった場合は、C1000 のランプ速度を変更してください。

プロトコールを移行して使用する場合には、次の方法が推奨されます。

・各関連ステップのランプ速度を変更し、移行元のサーマルサイクラーのランプ速度に合わせてください（37 ページ）。一般に、S1000 サーマルサイクラーに比べてランプ速度が遅いサーマルサイクラーを使用していた場合、実際のアニーリングステップのランプ速度が C1000 よりも低い可能性があります。

・反応条件を変更した場合、プライマーアニーリングを補助するために Mg^{2+}量を増量してください。この増量によって二次 PCR 産物が部分的に増幅されますが、主要な PCR 産物も増加します。

・各ステップの温度を調節し、プロトコールを再び最適化してください。最も重要となるポイントは、アニーリング温度の最適化です。

PCR のトラブルシューティング

この項目では、PCR トラブルシューティングに関するクイックガイドを記載します。より詳細なトラブルシューティング情報については、PCR Doctor のサイトをご参照ください。PCR Doctor へアクセスするには、まずブラウザで Gene Expression Gateway のウェブページ（bio-rad.com/genomics）を開き、Support > Amplification Central > PCR Doctor を選択します。

PCR 反応不良時のプロトコールの調整による対処方法は、次のとおりです。

・標的となる PCR 産物に加え、非特異的 な PCR 産物が認められる場合

ミスプライミングが生じると非特異的な PCR 産物にが生じます。こうしたミスプライミングの原因が試薬によるものではない場合には、アニーリング温度を調整する必要があります。

アニーリング温度を上昇させることによって、プライマー結合の特異性が高まります。アニーリング温度の最適化には、GRAD ステップ機能を利用してください。

・標的となる PCR 産物が得られず、非特異的な PCR 産物が認められる場合

非特異的な産物のみ認められ、標的となる PCR 産物が得られていないのは、完全なミスプライミングがあったためです。こうしたミスプライミングの原因が試薬によるものではない場合は、保持時間を調整する必要があります。

・標的となる PCR 産物の収率が低い場合

PCR 収率が低い要因としては、ミスプライミング、全体的に伸長ステップ時間が短いこと、アニーリング温度がかなり高いなどがあげられます。こうした低い収率が試薬によるものではない場合は、プロトコールを見直してください。

標的となる PCR 産物の増幅を高めるため、タッチダウンプロトコールを実行してください。その他の方法としては、アニーリング温度を下げる、あるいは GRAD ステップを使用し、アニーリング温度を最適化してください。

マイクロプレート、チューブ、シーリングおよびキャップなどの消耗品について

1000 シリーズサーマルサイクラーでは、バイオ･ラッドが販売する純正品のマイクロプレート、チューブ、シーリング、キャップを利用することができます。本章で掲載する消耗品は、動作確認された製品の一部となります。これらは S1000 サーマルサイクラーの規格に適合します。ただし、S1000 サーマルサイクラーは、他の標準的な消耗品にも対応するように設計されています。

使用する消耗品の構成や厚みや大きさなどは、PCR の結果に影響を及ぼします。消耗品の供給元や仕様を大幅に変更した場合は、本実験を行う前にプロトコールを必ず見直してください。

マイクロプレート、チューブ、シーリング、キャップは、各種の色を利用することが可能です。1000 シリーズサーマルサイクラーとの適合性に関して、当社は表 10 に示した純正品の使用を推奨します。

重要：10 μL 未満の微量サンプルには、Chill-out™などのシーリングワックス材が推奨されます。このワックスは、室温で固形化します。サンプルを取り出すには、固形化したワックスにマイクロピペットを差し込んでください。微量のサンプルを使用するプロトコールの最適化に関しては、「微量サンプル容量によるランの最適化」(63 ページ) を参照してください。

表 10 は、当社が提供するマイクロプレートおよびチューブに対応する検査済みのシーリング消耗品を示します。 なお、使用消耗品の供給元から承認を受けることができれば様々な PCR 用消耗品を使用することもできます。

表 10 中の記号は、カタログ番号の接頭文字 (最初の 3 文字) を意味します。

表 10 PCR マイクロプレートおよびチューブに適合するシーリング製品

TUBES AND MICROPLATES		CAPS AND SEALERS	
Description (Catalog Prefix*)	Volume and Number	Description (Catalog Prefix*)	
Tubes			Caps (TCS*)
Individual tubes with caps (TFI* and TWI*)	0.2 ml		(Included)
Strip tubes (TBS*)	0.2 ml, 8- and 12-tube		*Strip*
Strip tubes, low profile (TLS*)	0.2 ml, 8-tube		*Strip*
Microplates		Film (MS*)	Caps (TCS*)

TUBES AND MICROPLATES		CAPS AND SEALERS	
Unskirted and full height (MLP*)	24-, 48-, and 96-well	A, B, F	Strip
Unskirted and low profile (MLL*)	48- and 96-well	A, B, F, P	Strip
Skirted and full height (MSP*)	96- and 384-well	A, B, F	Strip
Skirted, full height, and hard-shell (HSP*)	96- and 384-well	A, B, F	Strip

* The prefix of the catalog number for each series of supplies.

プロトコールファイルおよびフォルダ

本章では、プロトコールファイルの内容とその管理方法について解説します。メインメニューのVIEW および FILES から、プロトコールファイル内容を確認し管理する場合に必要な機能を速やかに選択することができます。

本章概要

・ステップのオプション項目や装置設定に関するプロトコールファイル内容について
・FILES コマンドによるプロトコールファイルおよびフォルダ管理について
・複製、移動、削除、名称変更などプロトコールファイルの管理方法
・パスワード入力によるフォルダのプロトコールファイル保護
・フォルダの作成、削除、保護、名称付けなどの管理方法
・VIEW コマンドによるプロトコールファイルの確認

プロトコールファイルの内容

プロトコールファイルには、PCR 操作を最適化するための TEMP ステップおよび装置設定データが含まれます。S1000 サーマルサイクラーでは、温度 (TEMP) およびグラジエント (GRAD) の各ステップを使用して、一般的な PCR プロトコールとなる TEMP ステップを構成します。ただし、GOTO および END プロトコールステップは TEMP ステップには関与しません。S1000 サーマルサイクラーのプロトコールの構成内容に関する詳細については、以下を参照してください。

・4 種類のプロトコールステップについて (本ページ)
・プロトコールステップに追加可能な選択機能について (63 ページ)

プロトコールステップ

PCR プロトコールは TEMP ステップから構成されます。このステップでは、設定された時間 (保持時間) の間、サンプルが目標温度に維持されます。本装置のプロトコールファイルでは、温度 (TEMP) およびグラジエント (GRAD) ステップから TEMP ステップが構成されます。GRAD ステップとは、各ブロックでの温度グラジエントを含めた特殊な TEMP ステップです。

一般に、PCR プロトコールは以下のステップから構成されます。

1. 初回 TEMP ステップ

最初の TEMP ステップによって DNA テンプレートを熱変性させ、ポリメラーゼを活性化させます。S1000 サーマルサイクラーのプロトコールファイルに初回ステップを設定するため、TEMP ステップを実行してください。

2. PCR 産物を増幅する複数の TEMP ステップのサイクル

複数の TEMP ステップをサイクルとして繰り返すことによって PCR 産物が増幅されます。温度サイクルは通常、変性温度、アニーリング温度、伸長温度の 3 ステップからなります。この 3 ステップサイクルによって、鋳型 DNA の変性、鋳型 DNA へのプライマーのアニーリング、DNA ポリメラーゼによる相補鎖の伸長といった反応が得られます。ただし、一部の条件下では、アニーリングと伸長のステップをまとめた 2 ステップサイクルを用います。

本システムのプロトコールに変性ステップ、アニーリングステップまたは伸長ステップを追加するには、TEMP ステップまたは GRAD ステップを適用します。この TEMP ステップを繰り返すには、サイクルを繰り返したい最終ステップ直後に GOTO ステップを挿入します。

3. 最終 TEMP ステップでの PCR 産物の伸長

最終の伸長 TEMP ステップによって、サイクル期間に十分伸長しなかった PCR 産物の伸長反応を得ます。プロトコールファイルの最終ステップには、TEMP ステップを加えてください。

S1000 サーマルサイクラー上のプロトコールステップは、一般的な PCR プロトコールとは異なります。本システムに一般的な PCR プロトコールを適用する場合は、S1000 サーマルサイクラーで使用する以下の 4 つのプロトコールステップに移行してください。

・温度 (TEMP) ステップ。一般的な PCR プロトコールステップに相当します。
・グラジエント (GRAD) ステップ。温度グラジエントを含んだ TEMP ステップとなります。
・GOTO (GOTO) ステップ。PCR での繰り返し、サイクル作成のために追加するステップです。
・最終 (END) ステップ。プロトコールを自動終了するためのステップ。

下図は、S1000 サーマルサイクラーの 4 つのプロトコールステップを表示した画面です。

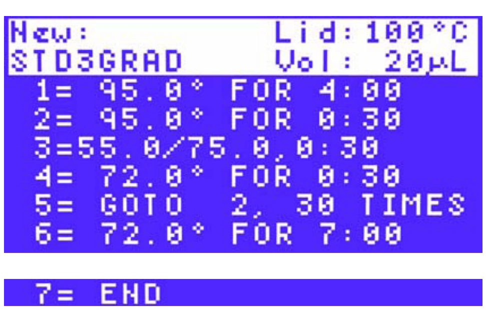


表 11 には、S1000 サーマルサイクラーで使用するプロトコールステップの名称、パラメータ、制限値、および機能をそれぞれ示します。

表 11 S1000 サーマルサイクラーで使用するプロトコールステップおよびパラメータ

Step Name	Parameters and Ranges	Description
TEMP (temperature)	**TEMP °C:** The target temperature between 0.0 and 100.0 °C in tenths of a degree.	A temperature step that instructs the thermal cycler to ramp to the specified target temperature and hold that temperature for the specified amount of time (see Step 5 on page 22).
	TIME: The hold time between 1 second and 18 hours in the format of hours:minutes:seconds. To enter an infinite hold (Forever), press the ∞ (Infinite, 0) key.	
GRAD (gradient)	**Lower:** The lower temperature in the gradient. Enter a number between 30.0 and 99.0 °C in tenths of a degree. Upper: The upper temperature in the gradient. The maximum temperature is 100°C. Enter a temperature within 24.0 °C of the Lower temperature.	A temperature step that instructs the thermal cycler to ramp to the specified target temperature gradient across the block and hold that temperature gradient for the specified amount of time (see Step 6 on page 23).
	TIME: The hold time between 1 second and 18 hours in the format of hours:minutes:seconds. To enter an infinite hold (Forever), press the ∞ key (zero, 0) key.	
GOTO	**GOTO STEP:** The step number of the first step in the repeat.	A protocol step that instructs the thermal cycler to repeat a set of steps for the specified number of times (see Step 8 on page 25). NOTE: The total number of cycles in the protocol is the number of GOTO repeats, plus the first cycle.
	ADDTNL REPEATS: The number of additional times that the steps repeat.	
END	(No parameters)	A protocol step that instructs the thermal cycler to finish the protocol (see Step 10 on page 27).

温度および GRAD ステップで使用する選択項目

S1000 サーマルサイクラーの TEMP ステップまたは GRAD ステップには、オプション機能があります。オプション機能により、おもにプロトコールステップに特別なパラメータを追加できます。下図は、TEMP ステップに用いる 4 つのオプション項目を示します。



下図は、GRAD ステップに用いる 2 つのオプション項目を示します。EXIT のオプション項目のみ、パラメータ変更が可能です。

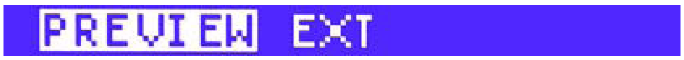


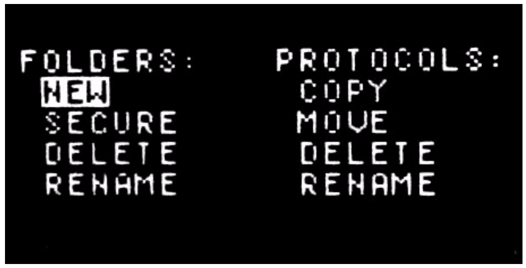
表 12 には、TEMP および GRAD ステップに使用する全オプション項目のほか、オプションパラメータの上限･下限および範囲を示します。

表 12　温度および GRAD ステップで使用するオプション項目

Option	Parameter and Range	Description
INC (increment)	A temperature from -10.0 to 10.0°C per cycle in tenth of a degree	Applies only to a temperature step (page 28). Instructs the thermal cycler to increment (change) the target temperature of a step with each cycle, where a positive number increases the temperature, and a negative number decreases the temperature.
EXT (extend)	A time from -60 to 60 seconds per cycle	Applies to both temperature and gradient steps (page 30). Instructs the thermal cycler to extend the hold time with each cycle, where a positive number increases the hold time, and a negative number decreases the hold time.
RATE (thermal ramp rate)	A number from 0.1 to 5°C/second	Applies only to a temperature step (page 31). Instructs the thermal cycler to ramp to the target temperature at the specified ramp rate in that step. Applies only to the Dual 48 and 96 Fast reaction modules.
BEEP	(No parameters)	Applies only to a temperature step (page 32). Instructs the thermal cycler to beep as a signal that the thermal cycler reached the target temperature of that step.
PREVIEW	(No parameters)	Applies only to a gradient step (*Step 6* on page 23). Instructs the thermal cycler to displays the temperature gradient on the block.

FILES コマンドによるプロトコール管理

FILE コマンドは、プロトコールファイルおよびフォルダを管理するため主要機能を含みます。各機能へのアクセスには、メインメニューから FILE を選択してください。



選択項目には、2 つのグループがあります。
フォルダ管理には、FOLDERS 以下に表示される項目を選択します。
プロトコールファイルの管理には、PROTOCOLS 以下に表示される項目を選択します。
表 13 に、フォルダおよびプロトコールの各機能項目をすべて表示します。

表 13 FILES に含まれる機能選択項目

Function	Description
PROTOCOLS:	
COPY	Copy an existing protocol file and save it with a new name. For instructions, see page 66.
MOVE	Move an existing protocol file to another folder. For instructions, see page 67.
DELETE	Delete an existing protocol file. For instructions, see page 68.
RENAME	Rename an existing protocol file. For instructions, see page 69.
FOLDERS:	
NEW	Create a new folder. For instructions, see page 72.
SECURE	Protected files can be deleted and edited but only after the password protecting them is used. For instructions, see page 71.
DELETE	Delete an empty folder. For instructions, see page 73. NOTE: A folder cannot be deleted if it contains protocol files.
RENAME	Rename an existing folder. For instructions, see page 74.

プロトコールファイルの複製・移動・削除・名称変更

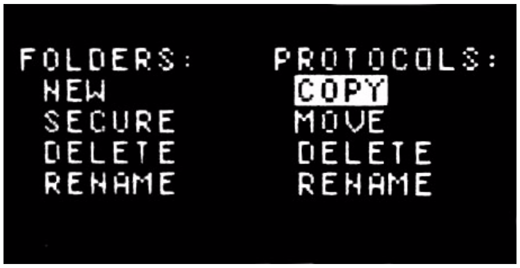
FILES のコマンドには、プロトコールファイル管理に使用できる機能がすべて含まれます。
本章では、以下の機能を順に説明します。
・COPY コマンドによるプロトコールファイルの複製
・MOVE コマンドによる他フォルダへのプロトコールファイル移動

・DELETE コマンドによるプロトコールファイル削除
・RENAME コマンドによるプロトコールファイルの名称変更

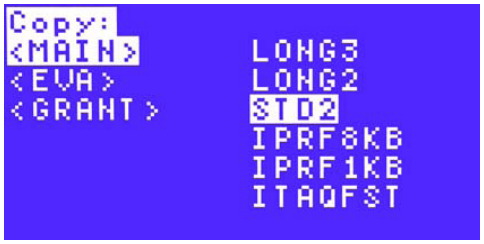
COPY 機能によるプロトコールファイルの複製

プロトコールファイルを複製するには、FILES > COPY を選択してください。この機能により、既存のファイルを複製し、新たにファイル名を入力することができます。複製したファイルを新規フォルダに移動させることも可能です。たとえば、保護されているプロトコールやプレインストールされているプロトコールを複製し、自分のフォルダに移し、必要であれば変更することができます。
以下の手順により、プロトコールファイルを複製してください。

1. COPY の選択
矢印キーによって COPY コマンドを選択し、ENTER を押して確定します。次の画面に進みます。



2. 複製するプロトコールファイルの選択
矢印キーによって複製するプロトコールファイルを含むフォルダを選択します。COPY コマンドを選択した後、右矢印キーを用いてコピーしたいファイルを選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。
下図では、MAIN フォルダに含まれる STD2 ファイルが選択されています。



3. 矢印キーを用い、コピーしたファイルを保存するフォルダを選択します。ENTER を押して確定します。

下図では、複製したファイルの保存先として、GRANT というフォルダが選択されています。



＊なお、選択したフォルダが保護されている場合は、複製の前にパスワードを入力する必要があります。

4. 複製したファイルの名称の入力

複製したプロトコールファイルの名称を入力します。上下矢印キーで文字を選択し、テンキーにて数字を入力します。次に、ENTER を押して確定します。

プロトコールファイルの名称は 8 文字以内で作成してください。文字には、数字または大文字が使用できます。フォルダには、それぞれ異なる名称を付けてください。

下図では、複製したプロトコール名称が、STD2GR と入力されています。



複製したプロトコールファイルは、メインメニューの EDIT コマンドを選択し、そのファイル名称を変更してください

MOVE コマンドによるファイルの移動

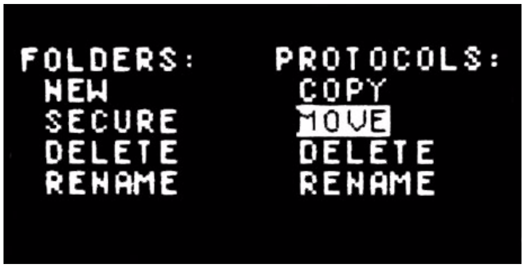
他のフォルダにプロトコールファイルを移動するには、FILES ＞ MOVE を選択してください。新たに作成したフォルダにプロトコールファイルを移動したい場合、この機能を使用します。

MAIN フォルダに保存したプロトコールファイルを保護するには、新規作成し、パスワード保護したフォルダにそのファイルを移動してください。

以下の手順により、プロトコールファイルを移動してください。

1.MOVE 選択

矢印キーを押し、MOVE を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



2.移動したいファイルの選択

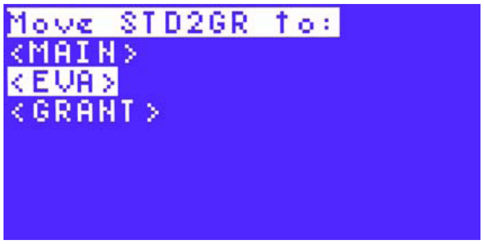
矢印キーを用い、移動したいプロトコールファイルを含むフォルダを選択します。右矢印キーを用いて、そのフォルダ内の移動したいファイルを選択します。ENTER を押してその選択を確定します。下図では、STD2G プロトコールが選択されています。



＊フォルダが保護されている場合は、ファイルを移動する前にパスワードを入力する必要があります。

3.ファイル移動先のフォルダ選択

上下矢印キーを用いて、ファイル移動先となるフォルダを選択します。ENTER を押してその移動を確定します。下図では、ファイルが EVA フォルダに移動されます。



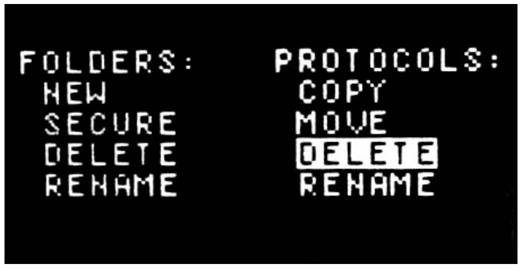
DELETE コマンドよるファイル削除

フォルダを空にする場合や余分なファイルコピーを除去したい場合には、FILES > DELETE を選択し、プロトコールファイルを削除してください。

以下の手順により、プロトコールファイルを削除します。

1.DELETE の選択

矢印キーを用い、DELETE を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



2.削除ファイルの選択

上下矢印キーを用いてフォルダを選択します。右矢印キーを用いて、フォルダ内の削除したいファイルを選択します。下図では、MAIN フォルダ内にある STD2G ファイルが選択されています。



＊なお、選択したファイルを含むフォルダが保護されている場合は、削除する前にパスワードを入力する必要があります。

3.削除の確定

YES または No を選択します。YES を選択して ENTER を押せば、ファイルが削除されます。その後、画面はメインメニューに戻ります。削除処理をキャンセルする場合は、No を選択してください。

注意：ファイルを削除すると、その記録は完全に消去されます。一度削除すると、記録を回復させることはできません。

同一のプロトコール名称を同一フォルダ内で使用することはできませんが、削除したファイル名称は再び使用することができます。

下図では、DELETE が選択されています。

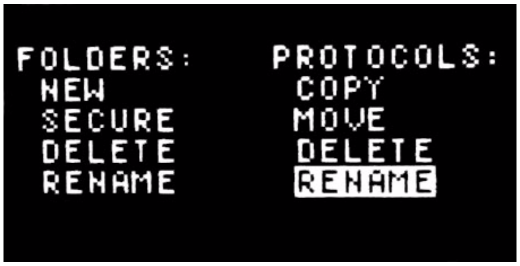


RENAME コマンドによるファイルの名称変更

プロトコールステップの名称を変更したり、別名ファイルとして保存したりしたい場合には、FILES > RENAME を選択します。次の手順により、プロトコールファイルの名称を変更してください。

1.RENAME の選択

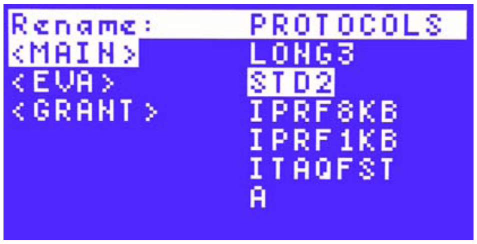
矢印キーを用いて、RENAME を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



2.名称変更するファイルの選択

上下矢印キーを用いて、フォルダを選択します。右矢印キーでファイルを選択します。ENTER を押して確定します。

下図では、STD2 ファイルが選択されています。



＊選択したファイルを含むフォルダが保護されている場合は、ファイル名を変更する前にパスワードを入力する必要があります。

3.新規プロトコールファイル名称の入力

上下矢印キーを用いて文字を選択入力し、テンキーを押して数字を入力してください。ENTER を押して新規名称を確定します。その後、画面はメインメニューに戻ります。

プロトコールファイルの名称は、8 文字以内で作成してください。文字には、数字または大文字が使用できます。フォルダには、それぞれ異なる名称を付けてください。

下図では、新規プロトコールが STD222 と入力されています。



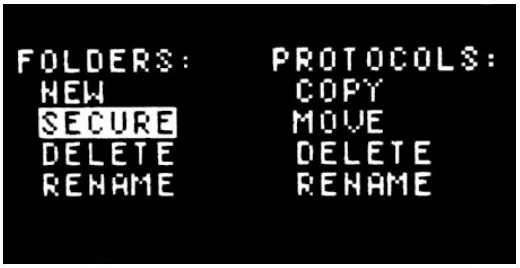
SECURE 機能によるフォルダ内のファイル保護

フォルダ内のファイルを完全に保護するには、FILES > SECURE を選択し、新規パスワードを作成するか、既存パスワードを変更してください。フォルダにパスワードを設定することにより、フォルダ内に保存するプロトコールファイルを保護します。パスワード保護されたフォルダ内に保存されているファイルを内容変更する、移動する、または削除する場合は、パスワードを必ず入力してください。ただし、保護ファルダー内のファイルを閲覧する、複製する、またはプログラム実行する場合は、パスワードの入力は不要です。

以下の手順により、フォルダのパスワード保護を行ってください。

1. SECURE の選択

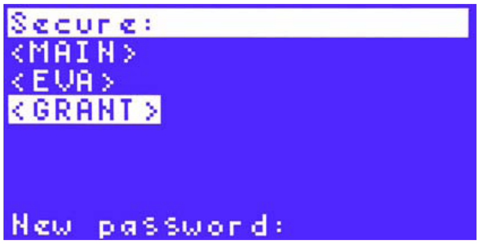
矢印キーを用いて、SECURE を選択します。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



2.パスワード保護するフォルダの選択

上下矢印キーを用いて、パスワードで保護したいを選択してください。

下図では、GRANT フォルダが選択されています。



パスワードを変更したい場合は、パスワード作成と同様の手順で行ってください。また、パスワードを変更する前に、必ず元のパスワードを入力してください。

パスワードを忘れた場合は、そのパスワードで保護されたフォルダ内のプロトコールファイルを削除、移動、変更することはできません。また、そのフォルダも削除することはできません。ただし、保護フォルダ内のプロトコールを別のフォルダに複製することは可能です。

3.新規パスワードの入力

テンキーを用い、数字を入力します。ENTER を押してそのパスワードを確定し、メインメニューに戻ります。

下図では、パスワードは 222 となります。



パスワードは 1 桁～4 桁までの数字で作成します。アルファベットは使用できません。
フォルダのパスワード保護機能を解除するには、前述のステップ 1～3 を繰り返し、数字を入力しないブランクパスワードを設定してください。

フォルダの作成･削除･名称変更

S1000 サーマルサイクラーでは、初期設定として MAIN フォルダにプロトコールファイルが保存されます。別のフォルダにファイルを保存したい場合には、新規にフォルダを作成してください。本章では、フォルダの作成、削除、名称変更などの管理方法について説明します。

1 つのフォルダには、プロトコールファイルが作成された順に表示されます。このため、MAIN ファイルに全ファイルを保存すると、ファイル数が多くなって表示が複数ページにわたるようになり、希望するファイルをすぐに確認することができなくなります。新たにフォルダを作成することにより、こうした問題を解消し、以下のようなメリットが得られます。

･プロトコールファイルを探し易くなります。
･パスワードで保護されたフォルダに保存することによって、プロトコールファイルを安全に確保できます。フォルダをパスワード保護することにより、他のサーマルサイクラーの使用者がプロトコールの変更、削除または移動を行うことができなくなります。ただし、保護されている場合もファイルの画面表示、プロトコールの実行、複製を行うことは可能です。

新規フォルダを作成していない場合、新しいプロトコールファイルを MAIN フォルダに一時的に保存することができます。新規フォルダを作成した後、MOVE（74 ページ参照）を選択し、ファイルをそのフォルダに移動することができます。

本マニュアルでは、この後フォルダの管理方法についての段階的に説明を進めます。
･CREATE 選択による新規フォルダ作成
･DELETE 選択によるフォルダ削除
･RENAME 選択による既存フォルダの名称変更

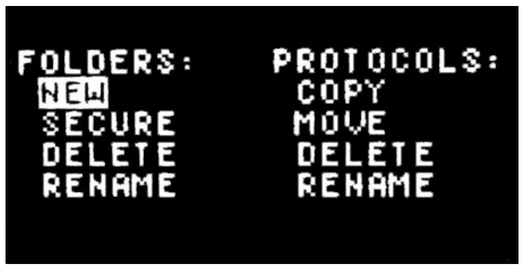
NEW コマンドによる新規フォルダ作成

見つけやすい場所にプロトコールをまとめて保存したい場合は、FILES > NEW を選択し、新しいフォルダを作成してください。なお S1000 サーマルサイクラーには、MAIN フォルダのほかに、11 個のフォルダ（合計 12 個）を収納することができます。

以下の手順により、新しいフォルダを作成してください。

1. NEW の選択

FILE メニューを開くと、初期設定として NEW が選択されています。NEW が選択されていない場合、矢印キーで選択してください。ENTER によって選択を確認し、次の画面に進みます。



S1000 サーマルサイクラーには、MAIN フォルダを含め 12 個のフォルダを保存することができます。

2. フォルダ名の入力

上下矢印キーを用いて文字を選択入力し、テンキーを押して数字を入力してください。その後、ENTER を押して確定し、次のスペースに移動します。名称の文字をすべて入力し終われば、ENTER で確定し、メインメニューに戻ります。

フォルダの名称は、8 文字以内で作成してください。文字には、数字または大文字が使用できます。フォルダには、それぞれ異なる名称を付けてください。

下図では、新規フォルダが ANNA と入力されています。



新規フォルダと同フォルダに保存される全ファイルをパスワード保護するには、71 ページの手順を実行してください。

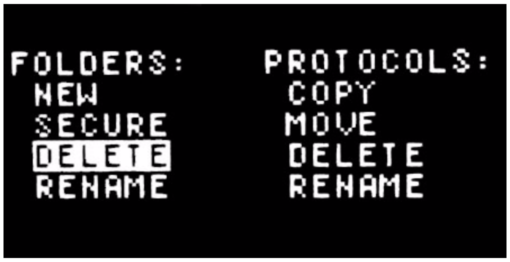
DELETE コマンドによるフォルダ削除

フォルダが不要になれば、FILES > DELETE を選択し、既存のフォルダを削除してください。別の目的に使用する場合には、フォルダ名を変更してください。

注意：フォルダは一度削除すると、完全に消去されます。

なお、プロトコールファイルを含むフォルダは、削除することができません。フォルダを削除する前に、メインメニュー上の VIEW を選択し、フォルダ内にファイルが残っていないかどうか確認してください。フォルダを削除するため、あらかじめ、そのフォルダに含まれているプロトコールファイルをすべて移動または消去してください。
以下の手順により、フォルダを削除してください。

1.DELETE の選択
矢印キーを用いて、DELETE を選択してください。さらに、ENTER を押して確定します。



2.削除フォルダの選択
上下矢印キーを用いて、 フォルダを選択します。ENTER を押して、次の画面に進みます。
下図では、ANNA フォルダが選択されています。



フォルダが保護されている場合は、削除する前にパスワードを入力する必要があります。

3.削除の確定
矢印キーを用いて、YES または No を選択します。削除する場合は YES を、削除しない場合は No を選択します。最後に ENTER により確定し、メインメニューに戻ります。

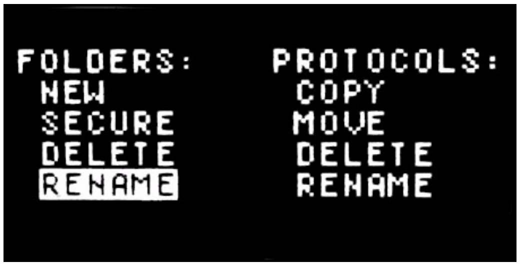
プロトコールファイルを含むフォルダについては、削除されません。

RENAME 機能によるフォルダ名称の変更

既存フォルダの名称を変更するには、FILES ＞ RENAME を選択してください。フォルダの名称を変更しても、そこに保存されているプロトコールファイルは変更されません。以下の手順により、フォルダの名称を変更してください。

1.RENAME の選択

矢印キーを用いて、RENAME を選択してください。ENTER によって選択を確定し、次の画面に進みます。



2.名称変更するフォルダの選択

上下矢印キーを用いて、名称変更したいフォルダを選択してください。

下図では、ANNA フォルダが選択されています。



3.フォルダの新規名称入力

上下矢印キーを用いて、文字を選択し、テンキーにて数字を入力します。ENTER を押して確定し、次の名称スペースにカーソルを移動します。名称入力がすべて完了すれば、ENTER を押して確定し、メインメニュー画面に戻ります。

フォルダの名称は 8 文字以内で作成してください。文字には、数字または大文字が使用できます。フォルダには、それぞれ異なる名称を付けてください。

フォルダが保護されている場合は、名称入力前にパスワードを入力する必要があります。

VIEW コマンドによるプロトコールファイルの表示

プロトコールファイルおよびフォルダ内容を表示するには、メインメニュー上の VIEW を選択してください。以下の手順により、ファイルおよびフォルダを表示してください。

1.VIEW の選択

矢印キーを用いて、メインメニュー上で VIEW を選択してください。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



2.フォルダの選択

上下矢印キーを用いて、フォルダを選択してください。フォルダを選択すれば、画面右側に、同フォルダ内のプロトコールファイルがすべて表示されます。

下図では、MAIN フォルダが、選択されています。

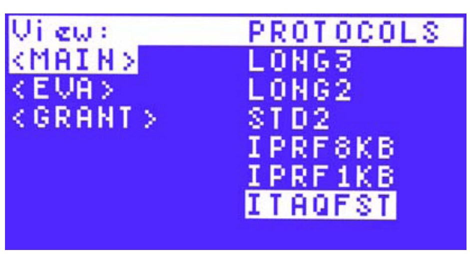


3.プロトコールファイルの表示

右矢印キーを用いて、フォルダ内のプロトコールファイルを選択してください。次に上下矢印キーを用いて、プロトコールファイルを選択します。ENTER を押し、次の画面に進みます。

重要：フォルダに 6 個以上のファイルが保存されている場合、すべてのファイルを表示するには下矢印キーを用いてスクロールしてください。

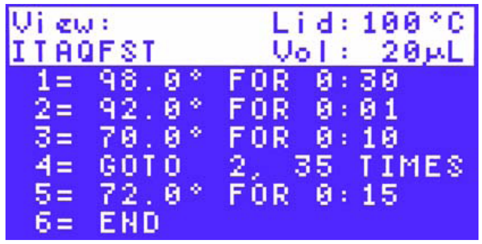
下図では、ITAQFST ファイルが選択されています。



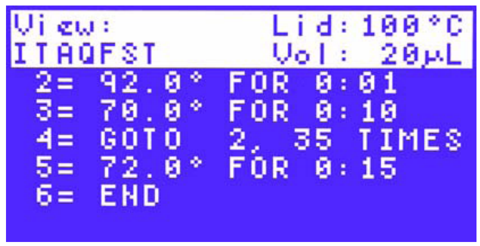
4.プロトコールファイルの表示

ENTER キーまたは上下矢印キーを用いて、END ステップまでプロトコールファイルをスクロール表示してください。

下図では、1 つの画面に 6 つのステップがすべて表示されています。



プロトコール終了の表示:



5.ファイル表示を終了するには、ENTER または CANCEL を押してください。

ENTER を押すと、プロトコールの表示は終了し、メインメニューに戻ります。

その他の有用なツールおよび機能

S1000 サーマルサイクラーは、単独で使用する際に便利なツールやリモートコントロール機能を備えています。TOOLS コマンドから、初期設定やポート設定などを行うことができます。S1000 は USB ポートまたは RS232 シリアルポートに C1000 サーマルサイクラーまたは自動操作システムを接続することにより遠隔操作することが可能です。

本章では、TOOLS コマンドのほか、別のシステムから S1000 サーマルサイクラーをコントロールするための機能について説明します。
・TOOLS コマンドによるシステム設定の表示または変更
・USB 接続した C1000 サーマルサイクラーとソフトウェアによる本システムの操作
・USB またはシリアルポート接続したロボットシステムによる本システムの操作

TOOLS コマンド

メインメニュー上の TOOLS コマンドにより、システムの設定などを行うことができます。TOOLS コマンドを選択すると、各ツールの機能リストが表示されます。



TOOLS コマンドには、以下の機能が含まれます。

- LAST RUN：前回実行したプロトコールの表示
- SELFTEST：サーマルサイクラーのセルフテストの実行
- VERSION：最新のシステムファームウェアのバージョン表示
- NAME：サーマルサイクラーの名称入力
- DEFAULTS：各種初期値の設定・ヒートリッド温度、「turn off below」機能、サンプル容量
- GRADCALC：設定した温度グラジエントの表示
- CONTRAST：液晶画面のコントラストの変更
- PORT：S1000 サーマルサイクラーの遠隔操作用ポートの変更

LAST RUN の表示

前回実行したプロトコールのパラメーター一覧を表示するには、TOOLS > LAST RUN を選択してください。デュアル 48 リアクションモジュールを使用している場合には、LAST RUN ツールでブロックを切り替えて各ブロックで実行したプロトコールを表示してください。

以下の手順により、前回実行したプロトコールを表示してください。

1.LAST RUN の選択

TOOLS の選択では、LAST RUN が初期設定でまず選択されます。選択されていない場合は、矢印キーで選択してください。ENTER を押して確定し、次の画面に進みます。



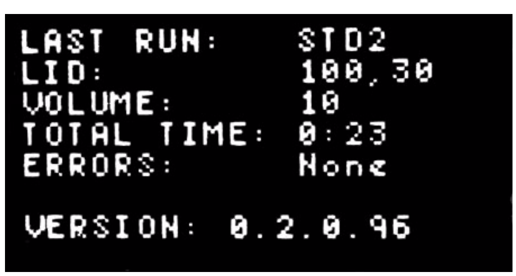
2.LAST RUN 画面の表示

LAST RUN 画面では、最後に実行したプロトコールのパラメーター一覧が表示されます。ENTER を押せば、TOOLS 選択画面に戻ります。そのプロトコールに表示されているパラメータを確認し、データに影響を及ぼすような設定が示されていないかどうか確かめることができます。LAST RUN 画面では、以下のパラメータが表示されます。

プロトコールの名称

- ヒートリッド温度
- ヒートリッドの Turn off below 温度
- 温度制御モードで設定されていたサンプル容量
- 総実行時間
- 実行中にに検知されたエラー件数
- S1000 サーマルサイクラーのファームウェアバージョン

下図では、最終的に実行したプロトコールは STD2 であり、ファームウェアバージョンは 2.0.96 となります。



このプロトコールを再び実行する場合は、プロトコール名をメモし、MAIN > RUN を選択した後、その名称のプロトコールを選択してください。

SELFTEST コマンドによるシステムチェック

TOOLS ＞ SELFTEST を選択すると、S1000 サーマルサイクラーが正常に機能しているかどうかを確認するテストを自動的に開始します。S1000 サーマルサイクラーは起動するごとに、自動的にセルフテストが実施されます。SELFTEST プロトコール時には、適正に機能していることがチェックされます。以下の手順により、セルフテストのマニュアル操作を行ってください。

1.SELFTEST の選択

矢印キーより、SELFTEST を選択してください。ENTER を押して、次の画面に進みます。



2.セルフテスト画面の表示

セルフテストが実行されている際には、下図のようにメッセージが画面に表示されます。また、テスト時には、ファンが作動し、停止する音も確認することができます。テストが完了すると、メインメニュー表示に変わります。



VERSION コマンドによるファームウェアバージョンの確認

S1000 サーマルサイクラーのファームウェアバージョンを確認するには、TOOLS ＞ VERSION を選択してください。以下の手順により、バージョンを表示します。

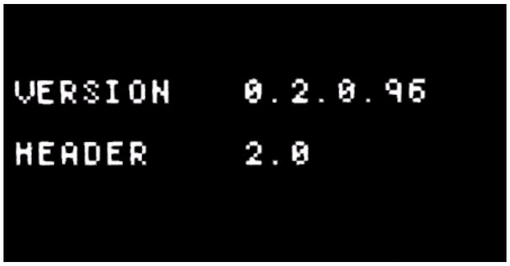
1.VERSION の選択

矢印キーを用いて、VERSION を選択してください。ENTER を押して次の画面に進みます。



2.ファームウェアバージョンの表示

画面にファームウェアバージョンを表示します。アルファユニットのヘッダバージョンも示されます。ENTER を押せば、メインメニューに戻ります。



NAME 選択によるサーマルサイクラーの名称付け

本機体に名称をつける、または変更するには、TOOLS ＞ NAME を選択してください。本機体の名称は、メインメニューに表示されます。以下の手順により、名称づけまたは名称変更を行います。

1.NAME の選択

矢印キーを用いて、NAME を選択します。ENTER を押します。



2.名称の入力
上下矢印キーを用いて文字を選択入力し、テンキーを押して数字を入力してください。ENTER を押して確定します。名称のスペースに次の文字を引き続き入力します。

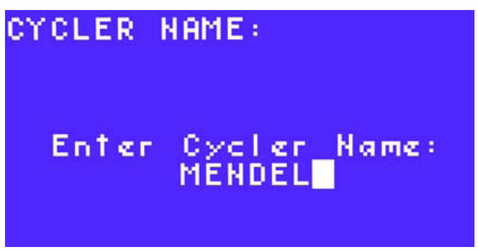
S1000 サーマルサイクラーの名称は、8 文字以内で作成してください。文字には、数字または大文字が使用できます。フォルダには、それぞれ異なる名称を付けてください。

下図では、上矢印キーを 12 回押すことにより、M の文字が入力されています。



C1000 サーマルサイクラーにて本システムを制御する場合では(94 ページ参照)、この名称または番号によって機体を識別します。C1000 サーマルサイクラーまたは 1000 シリーズソフトウェアのインストルメントツリーにも S1000 サーマルサイクラーの名称が表示されます。本機体に名称がついてい場合は、シリアル番号が表示されます。

3.名称の確定
ENTER を押してサーマルサイクラーの名称を確定し、メインメニューに戻ります。



DEFAULTS コマンドによる初期設定パラメータの変更

本機体の初期設定パラメータを変更したい場合には、TOOLS> DEFAULTS を選択してください。初期設定パラメータは、新規プロトコールまたは簡易インキュベーションに適用されます。

- Lid Target:新規プロトコールでのヒートリッド温度初期値の設定
- Turn off below:プロトコールを実行する際、ヒートリッド温度を 31°C に変更する温度設定
- Sample Vol:新規プロトコールのサンプル容量(Vol)初期値の設定

以下の手順により、上記の初期設定パラメータを表示し、変更してください。

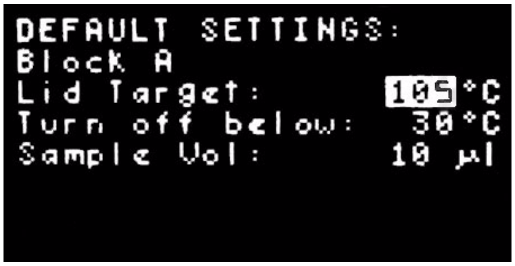
1.DEFAULTS の選択

矢印キーを用いて、DEFAULTS を選択します。ENTER を押して、次の画面に進みます。



2.初期設定値の変更（オプション）

上下矢印キーを用いて、初期設定値の項目を選択してください。下図では、本機体のシステム初期設定のパラメータを示しています。



DEFAULT SETTINGS（初期設定）は、以下の範囲で新規のプロトコールに適用されます。

- Lid Target：温度の設定範囲は、0～110°Cです。初期設定値は 105°Cです。
- Turn off below：ここで設定された温度未満で無制限の保持時間でブロックが保温されている場合、ヒートリッドは 31°Cに維持されます。
- Sample Vol：設定範囲は 0～50μL（384 ウェルリアクションモジュール使用の場合 30μL まで）です。この初期設定値は 10μL です。
- テンキーを押して、パラメータに変更値を入力します。ENTER を押して確定し、次のパラメータに進みます。

3.変更値の保存

YES または No を選択します。パラメータを保存する場合は、YES を選択し ENTER にて確定します。右矢印キーで No を選択し ENTER 確定すれば変更は取り消され、メインメニューに戻ります。

GRADCALC コマンドによる温度グラジエントの表示

各列の温度グラジエントをチェックしたい場合には、TOOLS ＞ GRADCALC を選択してください。これによって各ウェルがどのような温度になるかを計算し、表示します。S1000 サーマルサイクラーでは、ブロックの前列（Row H：最低温度）から後列（Row A：最高温度）に温度グラジエントが分布します。

以下の手順により、グラジエントを表示してください。

1.GRADCALC の選択

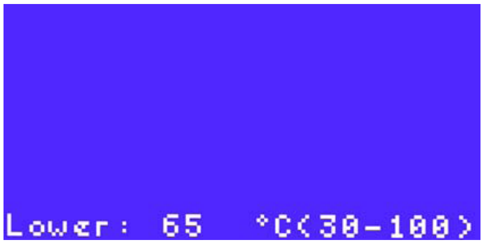
矢印キーを用いて、GRADCALC を選択してください。ENTER を押して次の画面に進みます。



2.グラジエント最低温度の入力

ブロックの前列に対するグラジエント最低温度を入力します。小数点を入力するには、CANCEL（.）キーを押します。この温度範囲は、30～99℃となります。

下図では、グラジエント最低温度が 65℃に設定されています。



3.グラジエント最高温度の入力

ブロックの後列に対するグラジエント最高温度を入力します。小数点を入力するには、CANCEL（.）キーを押します。グラジエント最高温度は、その最低温度よりも必ず高く、また最低温度から 24.0℃以内の温度幅に設定してください。

下図では、グラジエント最高温度が 75℃に設定されています。

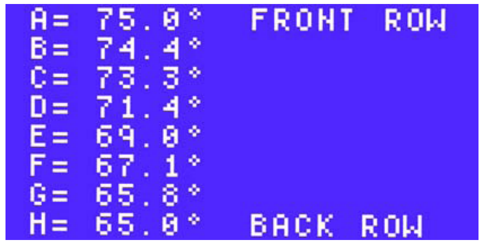


グラジエントの最高温度は、設定した最低温度により制限されます。設定可能な最も広い温度幅は 24℃となります。

4.温度グラジエントの表示

温度グラジエントは、ブロックのウェル各列の温度として表示されます。

下図では、各列の温度が表示され 96 ウェルブロックの D 列の温度が 71.4℃と表示されています。



なお、中間列の各温度は推定値となります。これらは前列および後列の温度、ならびにブロックの列数に基づいて算出されています。

CONTRAST コマンドによる画面コントラストの変更

画面上での文字の視認性を改善したい場合に液晶画面のコントラストを変更するには、TOOLS > CONTRAST を選択してください。

以下の手順により、CONTRAST を変更してください。

1. CONTRAST の選択

矢印キーを用い、CONTRAST を選択してください。ENTER を押し次の画面に進みます。



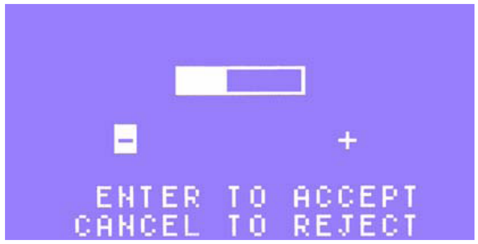
2.コントラストの調整

左右矢印キーを用いて、コントラストを調整してください。

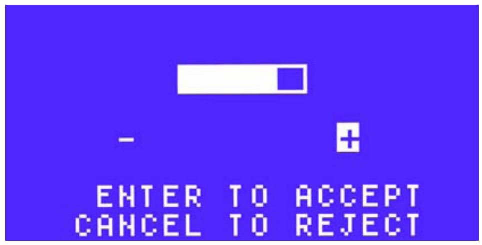
左矢印キーを押せば、コントラストが弱く（—）なります。



下図では、コントラストが弱められています。



右矢印キーを押せば、コントラストが強く（+）なります。下図では、コントラストが強められています。



3. コントラストの確定またはキャンセル

ENTER を押せば、コントラストの変更が確定され、TOOLS コマンド画面に戻ります。元のコントラストに戻したい場合は、CANCEL を押し、変更をキャンセルしてください。

PORT コマンドによる設定の変更

他の機械から遠隔操作するための設定を行うには、データ転送に使用するポートを選択する必要があります。TOOLS > PORT を選択し、データ転送ポートの一覧を画面に表示します（8 ページ）。以下の手順により、ポートを選択してください。

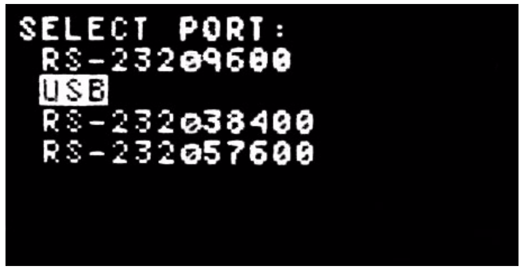
1. PORT の選択

矢印キーを用いて、PORT を選択してください。ENTER を押し、次の画面に進みます。



2. ポートの選択

上下矢印キーを用いて、ポート一覧から 1 つ選択してください。ENTER を押して、TOOLS コマンド画面に戻ります。



C1000 サーマルサイクラーによる S1000 サーマルサイクラーの制御

C1000 サーマルサイクラーは 1 台で S1000 サーマルサイクラーを 3 台まで制御することができます。本機体は C1000 サーマルサイクラーに直接接続するか、または直列的にデイジー・チェーン方式で接続することが可能です。このデイジー・チェーン方式では、C1000 サーマルサイクラーに連続的に S1000 サーマルサイクラーを接続します。

C1000 サーマルサイクラーに接続した場合、以下の方法で S1000 サーマルサイクラーを制御することができます。

・C1000 サーマルサイクラーのコントロールパネル

USB ケーブルにて本機体と C1000 サーマルサイクラーを接続し、C1000 サーマルサイクラーのインターフェースからプログラミングやプロトコールの実行を行います。

・1000 シリーズマネージャーソフトウェア

USB ケーブルにて 1000 シリーズマネージャーソフトウェアを装備したパソコンと C1000 サーマルサイクラーを接続し、C1000 サーマルサイクラーをさらに本機体に接続して制御します。

以下に示す 3 項目では、C1000 サーマルサイクラーを併用して、S1000 サーマルサイクラーに接続し操作する方法について説明します。

- S1000 USB B ポートからの C1000 サーマルサイクラーとの直接的な接続
- S1000 USB A ポートからの C1000 サーマルサイクラーとの間接的な接続
- C1000 サーマルサイクラー制御下での S1000 サーマルサイクラー操作

C1000 サーマルサイクラーと接続した場合の本システム操作方法については、C1000 サーマルサイクラーの取扱説明書、あるいは 1000 シリーズソフトウェアのオンラインヘルプまたは同製品の取扱説明書をご参照ください。

S1000 USB B ポートからの C1000 との直接的な接続

以下の手順により、S1000 サーマルサイクラーと C1000 サーマルサイクラーを直接、接続してください。

1. C1000 サーマルサイクラーへの USB ケーブル接続

高品質の USB シールドケーブルを本システム背面の USB B ポートに接続します。

2. C1000 サーマルサイクラーとの USB ケーブル接続

C1000 サーマルサイクラー背面の USB A ポートに接続します。C1000 サーマルサイクラーは、C1000 サーマルサイクラーを検知します。

3. C1000 への S1000 の追加接続

ステップ 1 および 2 に準じて、最大 3 台まで S1000 を C1000 サーマルサイクラーに接続します。

4. C1000 サーマルサイクラーの MAIN 画面またはインストルメントツリーを開きます。C1000 をパソコンに接続している場合は、C1000 サーマルサイクラーもしくは、1000 シリーズソフトウェアの MAIN 画面またはインストルメントツリーを開きます。

5. S1000 の選択

シリアル番号またはシステム名称にて S1000 を選択します。S1000 に名称が付けられている場合は、シリアル番号ではなく、名称が表示されます。

S1000USB A ポートからの C1000 サーマルサイクラーとの間接的な接続

S1000 は、C1000 サーマルサイクラーと間接的に接続する場合であっても、その制御下で操作することが可能です。以下の手順により、接続作業を行ってください。

1. 本システムへの USB ケーブル接続

高品質の USB シールドケーブルを背面の USB B ポートに接続します（8 ページ）。この USB シールドケーブルはバイオ・ラッドより購入することができます。

2. C1000 サーマルサイクラーとの USB ケーブル接続

C1000 サーマルサイクラー背面の USB A ポートに接続します。C1000 サーマルサイクラーは、1 台目の S1000 システムを検知します。

3. 2 台目の S1000 と最初の S1000 システム間での接続

高品質の USB シールドケーブルを本システム背面の USB B ポートに別の S1000 を接続します。最初の S1000 システム（C1000 サーマルサイクラーに接続したシステム）の USB A ポートにその USB ケーブルを接続します。

4. C1000 への S1000 の間接的な追加接続

ステップ 1 および 2 に準じて、最大 3 台まで S1000 を C1000 に間接的に接続します。

5. インストルメントツリー画面表示

C1000 サーマルサイクラー上または 1000 シリーズソフトウェアのインストルメントツリーを開きます。

6.複数の S1000 システムからの選択

シリアル番号またはシステム名称により、複数のS1000システムから1台選択してください。S1000サーマルサイクラーに名称が付けられている場合は(82 ページ)、シリアル番号ではなく、その名称が表示されます。

C1000 サーマルサイクラー制御下での S1000 サーマルサイクラー操作

S1000 サーマルサイクラーが C1000 サーマルサイクラーの制御下にある場合、「セミロックダウンモード」にあります。

「セミロックダウンモード」では、本機体のコントロールパネルを押しても操作することはできません。ただし、以下のキーについては操作が可能です。

- SCREEN キー:実行画面、グラフ画面、残余時間画面にアクセスできる。
- PAUSE キー:S1000 サーマルサイクラー上で実行しているプロトコールを一時的に停止できる。
- ENTER キー:ステップをスキップできる。
- CANCEL キー:S1000 サーマルサイクラー上で実行しているプロトコールをキャンセルできる。

ロボットシステムによる自動制御

本機体は、高処理量のワークフローでのロボット(自動操作)システムに対応することができます。ロボットシステムに接続するには、USB または RS232 シリアルポートを使用してください。PORT から使用するポートを選択します。

ロボットシステムを接続すると、コマンドによってS1000サーマルサイクラーが自動的に操作されます。コマンド等に関する詳細については、Gene Expression Gateway (bio-rad.com/genomics) ウェブサイトから Automation Guide をダウンロードしてください。このガイドには、ロボットシステム操作方法のほか、使用するコマンドに関する情報が提供されています。

自動操作システムによる Bio-Rad1000 シリーズ ™ の操作方法についての詳細は、C1000 サーマルサイクラーの取扱説明書を参照してください。

メンテナンスおよびトラブルシューティング

本章では、S1000 サーマルサイクラーのメンテナンスおよびトラブルシューティングに関して、以下の重要な情報を提供します。

- 最適な安全性と性能を得るための本システムのクリーニングおよびメンテナンス
- PCR 時の加温・冷却コントロールを最適化するためのエアフローのメンテナンス
- エラーメッセージの説明とその対応方法などのトラブルシューティング

S1000 サーマルサイクラーのクリーニングおよびメンテナンス

S1000 サーマルサイクラーは、ほとんどメンテナンスを行わずに、適正な操作と正確な加熱・冷却コントロールを維持することかできます。しかし、長期間安定した状態で使用するには、クリーニング等を定期的に行う必要があります。

- 本体のクリーニング
- リアクションモジュールのクリーニング
- ヒューズの交換

複数機器を持続操作するロボットシステムを使用している場合には、定期的プログラムによって、ちり、飛沫物、残留物質など、操作に影響を及ぼす物質が付着していないかどうか確認してください。

S1000 サーマルサイクラー本体のクリーニング

S1000 サーマルサイクラー本体は、定期的なクリーニングを行い、残留物質や汚れ等を除去してください。本体のクリーニング時には、空気取り入れ口やリアクションモジュールベイ部位を損傷しないように注意してください。一般的な方法として、飛沫や残留物質の付着物は、水を湿らせた柔らかい布で拭き取ります。

なお、放射性物質またはバイオハザード物質の取扱いとそのクリーニング方法に関しては、施設で提供される放射性物質の安全性やバイオセーフティに関するガイドラインを参照してください。こうしたガイドラインには、危険性物質のクリーニング、モニタリングおよび廃棄方法などが記載されています。

以下の手順により、本体をクリーニングしてください。その際、次の警告事項に十分ご注意ください。

注意！感電を避けるためにクリーニング時には、必ず電源を切り、コンセントを外してください。

･本体の空気取り入れ口のクリーニング
まず、柔らかいブラシ、湿った布または掃除機で、ちり･ホコリ等を除去してください。空気取り入れ口に付着した比較的大きなホコリ等は掃除機で取り除きます。空気取り入れ口のクリーニングによって、操作時に正確に温度を制御することが可能となります。

･コントロールパネルのクリーニング
コントロールパネルは、濃度のうすい石けん水で湿らせた柔らかい布で付着物や汚れを除去してください。ディスプレイ画面を傷つけないよう丁寧にふき取ってください。
コントロールパネルをクリーニングには、研磨剤入りの洗浄液や、きめの粗い布地を用いないでください。

･リアクションモジュールベイ部位のクリーニング
付着物や飛沫などは湿らせた柔らかい布で拭きとってください。ベイ部分のクリーニングにより、リアクションブロックの加熱･冷却温度を正確に制御することが可能となります。

注意！アルミニウムを腐食させる特性をもつ強力な洗浄液は使用しないでください。ベイ部分を摩耗させるようなクリーニング方法はとらないでください。摩耗や引っかき傷による損傷は、サーマルコントラストの制度に影響を及ぼすおそれがあります。

注意！リアクションモジュールベイ部位を濡らさないでください。コンポーネントに水分が付着すると、システムの電源が入っている場合に感電するおそれがあります。

･本体カバー外面のクリーニング
ケース外面は、湿らせた布またはティッシュで拭いてください。汚れが取れにくい場合は、石けん水を使用してください。本体カバーのクリーニングにより、腐食を予防します。

リアクションモジュールのクリーニング

S1000 サーマルサイクラーリアクションモジュールの定期的なクリーニングを行うことによって、ブロックへの試薬の蓄積が原因となる加熱･冷却性能の低下を予防することができます。

以下の手順により、リアクションモジュールをクリーニングしてください。その際、次の警告事項に十分ご注意ください。

注意！感電を避けるためにクリーニング時には、本体からリアクションモジュールを外してください。

・冷却フィンのクリーニング

柔らかいブラシまたは湿った布で、チリ・ほこり等を除去します。フィンに付着した比較的大きなホコリ等は掃除機で取り除きます。フィンに詰まった残留物質は、石けん水で湿らせた柔らかい布で付着物を除去してください。表面を引っかくような方法をとらないでください。漂白剤や研磨剤などアルミニウムを腐食させるおそれのあるクリーナーは使用しないでください。必要に応じて、濃度の薄いせっけん水で湿らせた布で拭き取り、その後はせっけん水の成分が残らないよう、十分に拭き取ってください。冷却フィンのクリーニングにより、サンプルを正確に加熱・冷却することが可能となります。

注意！ブロックのクリーニング：ブロック外側は、軽度の石けん水で湿らせた柔らかい布で付着物や汚れを除去してください。クリーニングには、研磨剤、腐食剤はもとより、ブロックを傷つけるような材料を用いないでください。

注意！強アルカリ性洗浄液（洗浄力の強い石けん、アンモニア、高濃度の漂白剤など）をブロックのクリーニングに使用しないでください。腐食性または研磨性洗浄液も使用しないでください。こうした洗浄剤を使用すると、ブロックを損傷し、精度の高い温度調整が不可能となるおそれがあります。

・ブロックウェルのクリーニング

付着した飛沫は、乾燥する前にすみやかに除去してください。水（推奨）、95%エタノール、または1：100（水：漂白剤）の比で希釈した溶液を入れたディスポピペットで取り除きます。その場合、エタノールや漂白剤成分、石けん成分が残留しないように、十分にウェルを水ですすいでください。

注意！ブロック内に、漂白剤、エタノールまたは石けん成分が残留すると、ブロックが腐食するおそれがあり、PCR を行っている際にチューブやマイクロプレートが破損する可能性があります。このため、水以外の洗浄剤を使用した場合は、ブロック内に洗浄液の成分が残留しないよう、十分にすすいでください。

ウェル内へのオイルの使用は推奨されません。ただしやむなくオイルを使用した場合には、ウェルを十分に洗浄してください。変色や汚れの残留がある場合には、クリーニングを行います。95%エタノール液でオイルを洗浄します。ブロック内にオイルが蓄積されないようにしてください。

注意！洗浄液を添加した後にブロックを加熱しないでください。洗浄液が入った状態で加熱すると、ブロック、ヒートリッドおよび本体が損傷するおそれがあります。

・ヒートリッド内側のクリーニング

濃度のうすい石けん水で湿らせた柔らかい布でインナーリッド表面の付着物や汚れを除去してください。研磨剤入りの洗浄液やきめの粗い布地を用いないでください。インナーリッドのクリーニングにより、サンプルの加熱・冷却温度を正確に制御することが可能となります。

・ヒートリッド外側のクリーニング
リッドの外側は湿らせた布またはティッシュで拭いてください。必要に応じて、濃度の薄いせっけん水で湿らせた布で拭き取ります。ヒートリッドカバーのクリーニングより、腐食を防止します。

適正なエアフローの確保

S1000 サーマルサイクラーでは、正確な加熱・冷却温度を得るために十分なエアフローを確保する必要があります。エアフローが障害されるとブロックが過剰に加熱されるため、適正に温度増減されなくなります。以下に、エアフローのチェック、エアフロー低下時またはエアフロー温度上昇時の対応方法について説明します。

エアフローテスト
S1000 サーマルサイクラー周辺でエアフローが十分に確保されていれば、目標温度に適切に加温・冷却することが可能となります。S1000 サーマルサイクラーを新しい場所に設置する際には、次の手順により、装置周辺に十分なエアフローが得られるかどうかテストを行ってください。

1.装置を設置する予定の場所に仮設置し、電源を入れます。

2.設置周辺環境の最適化
換気扇などの隣接する設備機器の電源を入れます。PCR を行う際に最適な条件を得るために、部屋の換気を行います。また、1 台以上のシステムを使用する場合は、同時にプロトコールの実行してください。

3.一般的な PCR プロトコールによる 30 分間の操作
サンプルを用意する必要はありませんが、空のマイクロプレートまたはチューブをセットしてください。このプレートやチューブがリアクションモジュールの加熱ブロックに接触している場合には、ヒートリッドが適正に加熱されません。

4.空気取り入れ口での温度測定
本機体の空気取り入れ口での温度が 31℃以上に上昇している場合は、以下の手順に準じて、十分なエアフローが得られるようにしてください。

不十分なエアフローの改善

サーマルサイクラー周辺の温度が 31℃を超える場合には、システム周辺に十分なエアフローが得られるように以下に示す方法で改善してください。

- 部屋の空気循環を高めるため、ファンを設置するか、エアコンシステムを調整する。
- エアコン設定を変更し、周辺温度を下げる。
- システムの設置場所を変更する。
- システム周辺や隣接機器間にスペースを確保する。機器の配置を変更し、別の装置から排出される暖気が本システムの空気取り入れ口に吸収されないようにする。
- ラジエーター、加熱処理を行う機器、直射日光などの加熱源にさらさないようにする。

ヒューズの交換

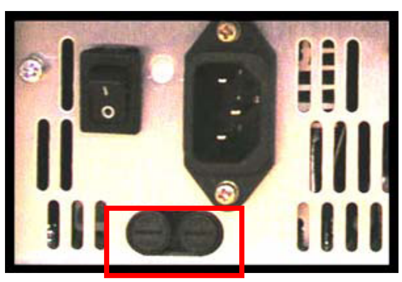
サーマルサイクラーのヒューズは、急激な電圧変化や他機器の電気的ショートが生じると切断されるように設計されています。こうしたプロセスにより、ユーザや本機体を過剰な電気負荷から保護します。まれに、ヒューズを交換する必要が生じます。ただし、施設によっては、システムの完全な操作性を保つために定期的にヒューズを交換する場合もあります。

本機体の電源が入らない場合は、まず電源コードがコンセントに接続されているかどうか確認します。次に、使用している電源コードおよび電源が本システムの仕様に準じているかどうか確認します。電源コードを交換する場合には、当社技術サポートまでご連絡ください (3 ページ)。

最後に、ヒューズに異常がないかどうかチェックします。ヒューズを取り出し、チェックするには、以下の手順に準じてください。

注意！感電を避けるためにクリーニング時には、必ず電源を切り、コンセントを外してください。

1.コインまたはドライバーを用いて、ヒューズ取付けネジをゆるめます。



2.ネジを外し、ヒューズを取り外します。

3.ヒューズが破損している場合は、同タイプの新品と交換します。その後、取付けネジで留めてください。ヒューズが破損しているか、変色しているのは、不良状態となります。正常なヒューズには変色や変形がありません。

トラブルシューティング

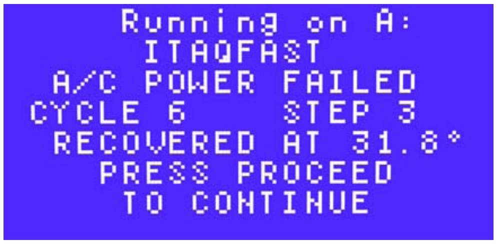
S1000 サーマルサイクラーは、エラーの発生なく作動するよう設計されています。通常、本システムに警告またはエラーメッセージを表示された場合には、その問題を解決する方法についても表示されます。

以下で、警告およびエラーメッセージについて説明します。

- 電源遮断後の再スタート
- S1000 サーマルサイクラーのエラーメッセージ

電源遮断後の再スタート

S1000 サーマルサイクラーを操作中に停電などにより電源が遮断された場合、再度電源供給が再開されると同時にプロトコールが再開されます。このような場合には、以下のようにメッセージが表示され、プロトコールが中断されたことを知ることができます。



注意！電源が遮断されると、PCR の結果に変化が生じます。電源供給ストップのために、ステップの保持時間が延長します。このため、電源が回復するまでの間は、サンプル温度が目標温度から外れてしまうことになります。

警告およびエラーメッセージ

PCR を行う際に発生したエラーは自動的に記録されます。PCR 終了後、すべてのメッセージが表示されます。たとえば、PCR がキャンセルされると、以下のように PROTOCOL CANCELLED の文字が表示されます。



メッセージをクリアするには、ENTER を押します。その後、次の画面が表示されます。メッセージがすべて消去されると、メインメニューに戻ります。

注意！一度メッセージを消去すると、再び表示させることはできません。

PCR 実行時に生じたエラーメッセージの総件数は、LAST RUN 画面に表示されます。
ただし、S1000 単体で使用している場合、終了後の画面が閉じられた後に、各エラーメッセージを再び開くことはできません。
エラーメッセージを追跡し、それを記録したい場合には、C1000 サーマルサイクラーまたはロボットシステムと接続してください。C1000 サーマルサイクラーの制御下で発生したエラー記録は取り出すことができます。 一部のエラーメッセージには問題が表示され、その内容のほか、実験結果に影響があった可能性等について説明されます。以下の表には、エラーメッセージとその解決法について表示しています。

表 14 警告およびエラーメッセージ説明

Message	Cause
A/C POWER FAILED POWER OUTAGE DURING CYCLE X STEP Y RESTARTED AT ZZ.Z TO CONTINUE PRESS ENTER	Displayed when a machine running a protocol has been turned off, either intentionally or due to a power outage, and then turned on again.
PLEASE RESTART CYCLER PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK OVERHEATED	Reaction module has exceeded maximum temperature of 107.5°C or sensor has a malfunction and is not measuring temperature accurately. Protocol terminated.
PLEASE RESTART CYCLER HEATSINK OVERHEATED PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Heatsink temperature has exceeded 75°C. Protocol terminated.
PLEASE RESTART CYCLER SYSTEM OVERHEATED PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Amplifier 1 temperature has exceeded 85°C. Protocol terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE ALL BLOCK SENSORS FAILED	All block sensors have failed (see below for failure criteria). Protocol terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE POWER SUPPLY OVERHEATED	Power Supply temperature has exceeded 85°C. Protocol terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE HEATED LID FAILED PROTOCOL CANCELLED	Lid sensor has failed during lid preheat. Protocol terminated.
PLEASE CHECK AIRFLOW HTSINK OVERHEATING PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Heatsink has exceeded 70°C. System beeps and displays error.
PLEASE CHECK AIRFLOW SYSTEM OVERHEATING PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Amp temp has exceeded 80°C. System beeps and displays error.
PLEASE CHECK AIRFLOW PS OVERHEATING PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Power Supply temperature has exceeded 80°C. System beeps and displays error.

Message	Cause
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE SLOW BLOCK CYCLING	Block failed to achieve target in the estimated time.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE SLOW LID CYCLING	Lid failed to achieve target in the estimated time.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE SLOW GRADIENT	Block failed to achieve gradient in the estimated time.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE HEATED LID FAILED	(singles only) If the right and left lid heater channels deviate from each other by more than 5°C the lid is shut off.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK SENSOR 0 FAILED	Block sensor 0 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK SENSOR 1 FAILED	Block sensor 1 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK SENSOR 2 FAILED	Block sensor 2 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASECALL BIO-RADFORSERVICE BLOCK SENSOR 3 FAILED	Block sensor 3 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK SENSOR 4 FAILED	Block sensor 4 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK SENSOR 5 FAILED	Block sensor 5 has failed* and the protocol was terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE LEFT LID SENSOR FAILED	Left lid sensor has failed*. If a dual, protocol terminated. If a single and BOTH lid sensors failed, protocol terminated and block sent to 4°C.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE RIGHT LID SENSOR FAILED	Right lid sensor has failed*. If a dual, protocol terminated. If a single and BOTH lid sensors failed, protocol terminated and block sent to 4°C.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE LEFT HEATSINK SENSOR FAILED	Left heatsink sensor has failed*, system using average of amplifier temperatures to continue.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE RIGHT HEATSINK SENSOR FAILED	Right heatsink sensor has failed* system using average of amplifier temperatures to continue.

*センサー不良とは、センサーがショートし、オフとなっている場合、あるいは 50ms の間で温度が3°C以上変化している場合、ならびにその状態が 2 秒以上続く場合をいいます。

2 つ以上のブロックセンサーが不良になった場合（またはヒートリッドセンサー不良の場合）、プロトコールが中断され、サンプル保護のためにブロックが 4°Cに保温されます。

Message	Cause
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE LID OVERHEATED AND WAS SHUT OFF	(duals only) Lid has overheated and has been shut off and protocol has been terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE AMP1 TEMP SENSOR FAILED	Amplifier temperature sensor 1 has failed*.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE POWER SUPPLY SENSOR FAILED	Power Supply sensor has failed*.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BLOCK POWER FAILURE PROTOCOL CANCELLED	Power to block is out of range.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE LOGIC POWER FAILURE	Logic power sensor is out of bounds.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE BASE POWER FAILURE PROTOCOL CANCELLED	Base power sensor is out of bounds. Protocol cancelled.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE AMP2 TEMP SENSOR FAILED	Amplifier temperature sensor 2 has failed*.
BLOCK MISSING PROTOCOL CANCELLED PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Reaction module has been removed. Protocol terminated.
PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE MEMORY CORRUPT PROTOCOLS MAY BE LOST	Protocol storage memory has been corrupted.
PLEASE RESTART CYCLER BAD REACTION MODULE PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Unable to read information from reaction module properly.
PLEASE RESTART CYCLER INCORRECT CHECKSUM PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	Information read from reaction module appears incorrect.
PLEASE RESTART CYCLER BLOCK POWER SHUT OFF PLEASE CALL BIO-RAD FOR SERVICE	There was a problem with the block and power was shut off
PROTOCOL CANCELLED SAMPLES COOLED AT 4C BLOCK SENSOR FAILED AT CYCLE X, STEP Y PLEASE RESTART CYCLER PLEASE CALL BIO-RAD	One of the block sensors in a single block has failed. The system has cancelled the protocol at step x, cycle y and sent the block to 4°C to preserve the samples.

一部のエラーメッセージには、バイオ･ラッドへの連絡をお願いするものがあります。その場合には、最寄りの当社技術サポートセンターまでお問い合わせください。

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

本社　〒140-0002　東京都品川区東品川 2-2-24
天王洲セントラルタワー20F
Tel : 03-6361-7000　Fax : 03-5463-8480
大阪　〒532-0025　大阪市淀川区新北野 1-14-11
Tel : 06-6308-6568　Fax : 06-6308-3064
福岡　〒812-0013　福岡市博多区博多駅東 2-5-28
Tel : 092-475-4856　Fax : 092-474-5580

製品の学術的なお問い合わせは
Tel : 03-6404-0331　Fax : 03-6404-0334
Mail : life_ps_jp@bio-rad.com

M10114 0902A